

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik
und Poliklinik

der Freien Universität Berlin
im Klinikum Westend

Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl

DER EINFLUSS VON IMMUNSUPPRESSIVA AUF DIE ANTIKÖRPERBILDUNG DES KANINCHENS

Der Einfluß eines synthetischen ACTH-Präparats
auf die Sensibilisierung von Kaninchen mit
Humanlymphozyten.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Regine Nützmann

aus Berlin

1973

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik
und Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Klinikum Westend

Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl

DER EINFLUSS VON IMMUNSUPPRESSIVA AUF DIE ANTIKÖRPERBILDUNG DES KANINCHENS

Der Einfluß eines synthetischen ACTH-Präparats
auf die Sensibilisierung von Kaninchen mit
Humanlymphozyten.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Regine Nützmann

aus Berlin

Referent: Professor Dr.med. Hilde G ö t z

Korreferent: Professor Dr.rer.nat. Tibor D i a m a n t s t e i n

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 15. Januar 1973



E i n l e i t u n g

ACTH und Kortikoide haben sich als ein wesentlicher Bestandteil der immunsuppressiven Therapie zur Vor- und Nachbehandlung von Alлотransplantationen der verschiedensten Organe, aber auch zur Behandlung von Auto- Immunerkrankungen sowie der Multiplen Sklerose bewährt (4, 9, 14, 25, 27, 29, 33, 35, 36, 42).

Aus der älteren klinischen Therapie ist hinlänglich bekannt, daß ACTH und Kortikoide in allen Fällen einer Allergie vom Soforttyp indiziert und nicht selten lebensrettend sind, wodurch sie auch hier ihren festen Platz im Behandlungsprogramm eingenommen haben (1, 3, 10, 23, 26, 31).

Demnach haben Kortikoide ganz allgemein einen intensiv hemmenden Effekt auf die geweblich faßbare Reaktion einer Entzündung, ungeachtet dessen, wodurch diese Entzündung hervorgerufen wurde. Sie mindern hyperergische Reaktionen vom Soforttyp ebenso wie solche vom Spätreaktionstyp. Dabei lassen sich im wesentlichen drei verschiedene Wirkungen der Kortikoide differenzieren:

Erstens Stabilisierungseffekt auf die Permeabilität von Membranen (15, 25). Dieser wird wahrscheinlich durch eine verminderte Freisetzung von lysosomalen Enzymen bedingt (44).

Zweitens Hemmung der Mucopolysaccharidsynthese und der Proteinsynthese (8) im Gefolge eines katabolen Effektes. Inwieweit im Zusammenhang mit einem solchen eiweißkatabolen Effekt auch eine Minderung der Gamma-Globuline und damit der molekularen Antikörper verbunden ist, ist bis heute noch Gegenstand widersprüchlicher Dis-

kussionen geblieben (2, 5, 7, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 34, 41 a-c, 43).

Drittens Lymphozytolyse.

Somit wirken Kortikoide aller Wahrscheinlichkeit nach nicht nur auf die Antigen-Antikörper-Reaktion durch ihren permeabilitätsstabilisierenden Effekt, sondern auch auf die Antigenerkennung und auf die Zellprotein- bzw. Antikörperproduktion des sensibilisierten Immunsystems. Einzelbeobachtungen, wonach ACTH und Kortikoide eine gesteigerte Freisetzung von Lymphozyten aus lymphatischen Organen bewirken sollen, würden dafür sprechen, daß Kortikoide im Verein mit Zytostatika eine ideale immunsuppressive Kombinationstherapie darstellen.

Wie bereits angedeutet, wird diskutiert, daß die Verminderung von Antikörpern, sei es molekularer, sei es zellulärer Antikörper, sekundär durch eine katabole Eiweißstoffwechselwirkung resultiert. Neuere Untersuchungen (32) haben gezeigt, daß insbesondere Kortison eine unterschiedliche Reaktivität der Zellen des Knochenmarks sowie der Milz bewirkt. Diesen in-vivo- Untersuchungen zufolge kommt es unter Kortison zu einer Verminderung der Stimulierbarkeit von Milzzellen durch Phythämagglutinin, dagegen zu einer Erhöhung der Aktivierung der Knochenmarkszellen. Insgesamt werden unter Kortison die Antikörperbildung und hämatopoetische sowie proliferative Eigenschaften der Milzzellen unterdrückt, während dies für die Zellen des Knochenmarks demnach nicht gilt.

Aus der praktischen Erfahrung der Transplantationsimmunologie wie auch der Behandlung von Kollagenosen und anderen Auto-

immunerkrankungen ist hinlänglich bekannt, daß Kortison, das in diesen Fällen im Sinne einer Langzeithherapie appliziert wird, von einer Reihe erheblicher Nebenwirkungen begleitet sein kann. Es handelt sich dabei um die Entwicklung eines Cushing-Syndroms, eines Ulcus ventriculi oder duodeni -- wohl auf dem Boden einer Anregung der Magensaftsekretion -- sowie eines isolierten Steroid-Diabetes. Es lag daher nahe, sofern es die Indikation zuließ, an Stelle von Kortison ACTH-Präparate einzusetzen, die wesentlich mildere Kortisoneffekte bei ausreichender therapeutischer Wirksamkeit erkennen ließen. Insbesondere haben sich hier synthetische ACTH-Präparate bewährt (39, 40), weil aufgrund inzwischen gesammelter experimenteller und klinischer Erfahrungen sensibilisierende Wirkungen sowie die Folgen einer frühzeitigen Nebennierenrindeninsuffizienz weitgehend ausgeschlossen werden können. Zur Klärung der Effektivität eines solchen ACTH-Präparates im Rahmen einer Immunsuppression sollte deshalb in der vorliegenden Versuchsreihe überprüft werden, inwieweit ACTH die zelluläre Antikörperbildung zu hemmen vermag, ohne daß für die Praxis unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Als Modell wurde die Gewinnung von heterologem Antilymphozytenserum, d.h. die Sensibilisierung von Kaninchen mit menschlichen Lymphozyten mit sowie ohne ACTH gewählt.

Hauptteil

I) Versuchsanordnung und Methodik

1) Versuchsanordnung

Die Versuchsreihe wurde an Kaninchen mit einem synthetischen ACTH-Präparat sowie unter Verwendung menschlicher Lymphozytensuspension durchgeführt. Es wurden insgesamt 15 Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 2000 g in Versuch genommen. Fünf Tiere wurden in einer Gruppe (KL 1-5) zusammengefaßt, in welcher nur Lymphozytensuspension zur Sensibilisierung verwendet wurde, weitere fünf Kaninchen (KA 1-5) erhielten ausschließlich ACTH, die fünf Kaninchen der letzten Gruppe (KAL 1-5) bekamen sowohl ACTH als auch Lymphozyten appliziert.

Vor Versuchsbeginn (Ausgangswert) sowie am 15. Tag (Kontrolle) und am 40. Tag nach Versuchsbeginn (Endwert) wurde sämtlichen Tieren Blut entnommen und in folgender Weise analysiert:

- Bestimmung der Erythrozyten- und Leukozytenzahl sowie Beurteilung des
- peripheren Blutbildes (Differentialblutbild)
- Untersuchung der Serumeiweißkörper mit Hilfe der Celluloseacetatfolien- (CAF-)-Elektrophorese sowie der
- Immunoelektrophorese
- Bestimmung der Gesamtlipide
- Bestimmung des Gesamtcholesterins
- Bestimmung des Gesamteiweißes
- Bestimmung des Blutzuckers
- Zytotoxizitätstest: Kaninchenserum gegen Humanleukozytensuspension

Darüber hinaus wurden am 38. Versuchstag Kutanreaktionen mit dem für die Sensibilisierung verwendeten Leukozytenfiltrat,

Histamin und physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen. Am Ende der Versuchsreihe wurden die Tiere getötet, maximal entblutet, seziert und auf makroskopisch oder mikroskopisch faßbare Organveränderungen untersucht. Im einzelnen wurden dabei folgende Organe berücksichtigt: Nebennieren, Milz, Leber, Knochenmark und Herzmuskulatur. Schließlich wurde mit den Milzzellen der Tiere und den zur Sensibilisierung verwendeten menschlichen Lymphozyten ein Test zum Nachweis der spezifischen Sensibilisierung der Kaninchenmilzzellen vorgenommen: Mixed Milzzellen-H-Lymphozyten-Kultur-Test.

2) M e t h o d i k

a) Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte durch Anschneiden einer randnahen Ohrvene des Kaninchens mit einer Rasierklinge. Es wurden jeweils 12 - 15 ml Vollblut gewonnen. Hämolytische Seren wurden nicht verwendet.

b) Aufbereitung der für die Sensibilisierung verwendeten Lymphozyten (28)

Es wurde folgendermaßen vorgegangen: Entnahme von Nüchternblut aus einer Kubitalvene unter Wahrung steriler Kautelen; für die erste Sensibilisierungsserie wurden dafür ca. 170 ml Blut gewonnen und unmittelbar nach dem Einfließen der ersten Milliliter in einen mit Glasperlen beschickten Erlenmeyerkolben durch Schütteln desselben defibriniert. Zur Sedimentation der Erythrozyten wurde das Blut mit 5 %iger Dextranlösung (25 ml / 100 ml Blut) versetzt und 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Von

dem Überstand wurden je 3 ml auf Baumwollwatte gegeben und nach 30-minütigem Inkubieren ausgepreßt, um die Granulozyten zu entfernen. Der Rest einer Erythrozytenbeimischung wurde durch Überschichten des Preßsaftes mit Albumin⁺) (1 ml Albumin 30 % auf 1,5 ml Preßsaft) und Zentrifugieren (10 min bei 500 U/min und anschließend 15 min bei 3000 U/min) entfernt. Die weitgehend reine Lymphozytenfraktion wurde zweimal in Hanks'scher Lösung gewaschen und unmittelbar mit je drei Tropfen menschlichem Komplement und Kaninchenkomplement versetzt. Dann wurde die Zellzahl bestimmt und das Filtrat für die Sensibilisierung auf eine Zellzahl von $2 \times 10^6/\text{ml}$, für die Boosterinjektion (s.u.) auf eine Zellzahl von $3,6 \times 10^6/\text{ml}$ eingestellt. Hiervon wurde prinzipiell ein Teil intravenös injiziert sowie ein Teil des Filtrats mit Freund'schem Adjuvans⁺⁺) im Verhältnis 1 : 2 gemischt und intramuskulär appliziert.

c) Applikationsmodus für ACTH und Sensibilisierungsmodus (Abb. 1)

ACTH wurde als Cortrosyn depot⁺⁺⁺) (1 ml Lösung = 1 mg ACTH) nach dem Schema in Abb. 1 appliziert. Im einzelnen erhielt jedes Tier pro Injektion während der ersten bis neunten Injektion 1 mg ACTH i.m., die letzten

⁺) Rinderalbumin BEHRING - Werke

⁺⁺) Freund'sches adjuvans complete DIFCO Laboratories
Detroit Nr. 0638-60

⁺⁺⁺) Cortrosyn Depot Fa. ORGANON
Tetracosapeptid long-acting
pack. no. 576066

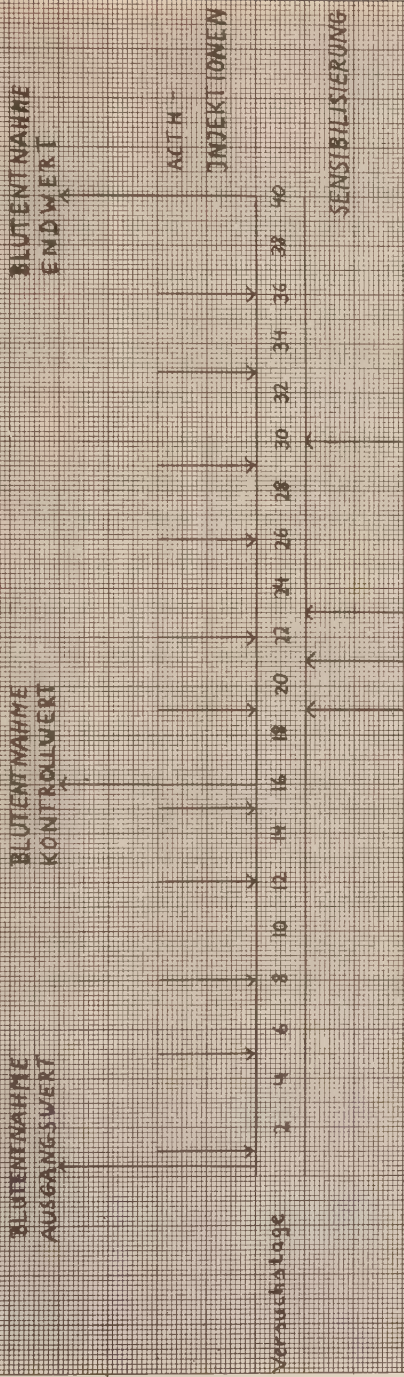


Abb. 1 VERSUCHSABLAUF

beiden Male der Injektionsserie 0,5 mg ACTH i.m..

Die Sensibilisierung mit dem Lymphozytenfiltrat erfolgte nach dem ebenfalls in Abb. 1 angegebenen Schema. Im einzelnen erhielt jedes Tier pro Injektion während der Sensibilisierungsphase 0,5 ml Zellfiltrat mit einer Zellzahl von 2×10^6 /ml.

Am 11. Tag nach Sensibilisierungsbeginn wurde nach einem sensibilisierungsfreien Intervall von 6 Tagen jedem Tier 0,5 ml freie Lymphozytensuspension i.v. sowie 1,0 ml der Mischung aus Lymphozytenfiltrat und Freund'schem Adjuvans i.m. injiziert. Die Zellzahl des Lymphozytenfiltrats betrug dabei $3,6 \times 10^6$ /ml.

d) CAF - Elektrophorese

Die CAF-Elektrophorese wurde in herkömmlicher Weise nach Kohn (30) vorgenommen. Im Prinzip wird dabei auf einem puffergetränkten (pH = 8,2, Ionenstärke $\mu = 0,05$) CAF-Streifen⁺) eine bestimmte Serummeng e aufgetragen und in einer geeigneten Trennkammer elektrophoretisch differenziert (45 min bis 2 1/2 Std). Die mit Amidoschwarz 10 B gefärbten Fraktionen werden mit einem Extinktionsschreiber als Diagramm objektiviert, planimetriert und in relativen Prozentzahlen angegeben. Unter Bezugnahme auf die Gesamteiweißwerte können diese relativen Prozente in absoluten g % berechnet werden.

e) Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese wurde nach den Angaben von

⁺) Fa. SCHLEICHER und SCHÜLL

Scheidegger (39) auf Objektträgern unter Verwendung eines spezifischen, polyvalenten Anti-Kaninchen-Serums⁺) vorgenommen.

Im Prinzip handelt es sich dabei um die Kombination von Elektrophorese eines Proteingemischs in einem gepufferten Agargel und immunologischer Reaktion der getrennten Komponenten mit einem spezifischen Immunserum. Durch zweidimensionale Immunodiffusion entstehen an den Berührungsstellen von Antigen und spezifischem Antikörper unlösliche Präzipitationslinien als Ausdruck der stattgehabten Antigen-Antikörper-Reaktion.

Ausführung: Nach Vorbereiten eines Objektträgers durch Aufgießen von 1,5%iger gepufferter (pH = 8,2, Ionenstärke $\mu = 0,05$) Agarlösung, Erstarrenlassen derselben und Ausstanzen eines Antiserumkanals wurde das Kaninchen-serum aufgetragen und in der Elektrophoresekammer bei einer Spannung von 200 Volt behandelt. Die Dauer der Elektrophorese war abhängig von der Zahl der gleichzeitig zu untersuchenden Proben und betrug 1 - 3 Stunden. Nach Abschluß der Elektrophorese wurde das Antikaninchenserum aufgebracht und nach 10 - 12 Stunden die Präzipitationslinien beurteilt.

f) Peripheres Blutbild

Das periphere Blutbild wurde in der hinlänglich bekannten Weise (45) durchgeführt. Im einzelnen wurden die Erythrozyten- und Leukozytenzahlen festgestellt sowie

⁺) Vertrieb TRAVENOL International, München
Hyland lab. no. 71-233

der Differentialblutausstrich beurteilt.

g) Zytotoxizitätstest

Als Technik wurde der Mikrozytotoxizitätstest nach Küssmeyer-Nielsen (28) gewählt. In vorliegender Versuchsanordnung wurden jeweils zwei gleichartige Analysensätze mit lediglich unterschiedlichem Komplementzusatz vorgenommen:

In der ersten Reihe (A) wurde das Serum unbehandelter Kaninchen als Komplementspender, in der anderen (B) das Serum eines gesunden Menschen als Komplement verwendet. Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen:

1. Herstellung der Lymphozytensuspension (siehe Abschnitt 2 b)
2. Durchführung des Testes

Je $1\mu\text{l}$ Kaninchenserum und Lymphozytensuspension wurden auf einem Objektträger unter einer Ölschicht gemischt und 30 min bei 37°C inkubiert. Dann wurden $0,5\mu\text{l}$ Trypanblaulösung (aa 2 %ige wäßrige Trypanblaulösung + 1,8 %ige NaCl-Lösung) dem Gemisch zugeführt, 30 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend das Testergebnis unter dem Mikroskop abgelesen.

Bewertung: Als negativ wurden jene Reaktionsansätze bezeichnet, die weniger als 10% blau gefärbte, blastomatische Lymphozyten aufwiesen, als fraglich positiv solche, die 20 - 30% enthielten; lag der Anteil der transformierten Lymphozyten bei 30 - 60 bzw. 60 - 100% wurde die Reaktion als positiv bzw. stark positiv bezeichnet.

h) Kutanreaktionen

Zum Nachweis einer delayed-type-hypersensitivity-Reaktion wurde der Intrakutantest mit Lymphozytenfiltrat und die Beobachtung der Hautreaktion nach 12, 24 und 36 Stunden vorgenommen. Im Vergleich dazu wurde zum Ausschluß einer eventuell gleichzeitig bestehenden immediate-type-hypersensitivity-Reaktion Histamin mit Leukozytenhomogenat im Intrakutantest geprüft. In diesem Fall wurde bis 20 min beobachtet. In jedem Fall wurde physiologische Kochsalzlösung als Lösungsmittel mitappliziert.

i) Mixed Milzzellen-Lymphozyten-Kultur-Test

In einer selbstgewählten Versuchsanordnung wurde folgendermaßen vorgegangen:

1. Aufbereitung der Lymphozyten (siehe Abschnitt 2 b)
2. Aufbereitung der Milzzellen

Die nach Tötung der Kaninchen entnommene Milz wurde grob zerkleinert und durch die Embryonenpresse gegeben. Das Filtrat wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt (1 Vol. Zellfiltrat + 4 Vol. NaCl physiol. steril.), bei 2000 Upm zentrifugiert, der Überstand abgegossen und danach viermal mit physiologischer Kochsalzlösung in gleicher Weise gewaschen. Danach wurde der Überstand ein letztes Mal abgehebert und die verbliebenen Milzzellen im Verhältnis 1 : 10 mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt.

3. Inkubation der Milzzellen mit spezifischen Hetero-lymphozyten

Von jeder der beiden Suspensionen wurden je 1 Vol. mit 1 Vol. des Reaktionspartners gemischt, kurz ge-

schüttelt, mit Hanks'scher Lösung, Humankomplement, Kälberserum sowie Penicillin und Streptomycin versetzt und danach 20 min bei 37°C im Brutschrank belassen. Nach Zugabe von 6 Tropfen Trypanblau wurde ein Tropfen des Zellgemisches auf einen Objektträger aufgetropft und unter dem Mikroskop beurteilt; dabei war darauf zu achten, daß das Zellfiltrat unmittelbar nach dem Mischen mit einem Glasstab unter einem Deckglas betrachtet wurde.

k) Fluoreszenzimmunologische Untersuchungen von Milzzellen zum Nachweis zellfixierter Antikörper

Es wurde die Technik nach Coons und Mitarb. (11) gewählt. Die Untersuchungen erfolgten an Milzzellpräparaten der am Ende des Versuchs entnommenen Milzorgane aller Gruppen. Es wurde jedes Präparat nach Fixierung mit Methylalkohol in der Kälte nach flüchtigem Trocknen mit den zur Sensibilisierung verwendeten Humanlymphozyten beschickt, inkubiert, gespült und anschließend mit fluoreszeierten (Fluoreszeinisothiocyanat⁺) Antiseren behandelt. Nach Inkubation für 30 min bei 37°C wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und unverzüglich im Fluoreszenzmikroskop⁺⁺) beurteilt. In einer zweiten Versuchsserie wurden die für die Sensibilisierung verwendeten Humanlymphozyten mit Methylalkohol in der Kälte

⁺) Präparat der BEHRING - Werke

⁺⁺) Fa. ZEISS, Oberkochen

fixiert (Ausstrichpräparat), mit Kaninchenserum (Anti-lymphozytenserum und Serum nichtsensibilisierter Tiere) inkubiert, gespült und anschließend mit fluoreszierten Antiseren gegen menschliches IgA-, IgG- und IgM-Protein überschichtet, inkubiert und nach Spülen im Fluoreszenzmikroskop betrachtet.

l) Gesamtlipide und Gesamtcholesterin

m) Blutzucker

n) Gesamteiweiß

Diese Untersuchungen wurden routinemäßig im Zentrallabor des Krankenhauses Westend durchgeführt⁺⁾ .

o) Histologie

Die histologischen Untersuchungen wurden in herkömmlicher Weise durch Fixieren in 10 %igem Formalin, Einbetten in Paraffin, Anfertigen von Schnitten von 4 μ Dicke und Färben mit HE vorgenommen⁺⁺⁾ .

p) Dokumentation der einzelnen Befunde

Die Ergebnisse des peripheren Blutbildes wurden in Zahlen sowie Originalpräparaten festgehalten, die Befunde der GAF-Elektrophorese als Diagramme und in relativen und absoluten Prozentsen, die Befunde der Immunelektrophorese durch Fotografie, der Zytotoxizitätstest mikroskopisch sowie in Prozentsen der blau gefärbten, blastomatösen Lymphozyten, die Kutanreaktion in Angabe der Intensitäts-

⁺⁾ Unser bester Dank gilt hierfür Chefarzt Dr. Weller und seinen Mitarbeitern.

⁺⁺⁾ Für ihre freundliche Hilfe hierbei sei der Med. Techn. Assistentin Frau M. Lebeck herzlich gedankt.

grade bzw. des positiven oder negativen Hautphänomens,
die Serumbestimmungen von Gesamtlipiden, Gesamtcholesterin,
Gesamteiweiß und Blutzucker in den für sie typischen Ein-
heiten, der fluoreszenzoptische Test mikrofotografisch
dokumentiert.

II. E r g e b n i s s e

1) Beobachtungen an den Versuchstieren

Es konnte bei allen Versuchstieren eine deutliche Größen- und Gewichtszunahme bei durchschnittlicher Freßlust festgestellt werden, wobei sich zwischen den einzelnen Gruppen keine wesentlichen Unterschiede ergaben. Die Tiere waren in ihrem Verhalten ausnahmslos unauffällig, Infektionen oder Veränderungen der Fellbeschaffenheit konnten nicht beobachtet werden.

2) Befunde des peripheren Blutbildes

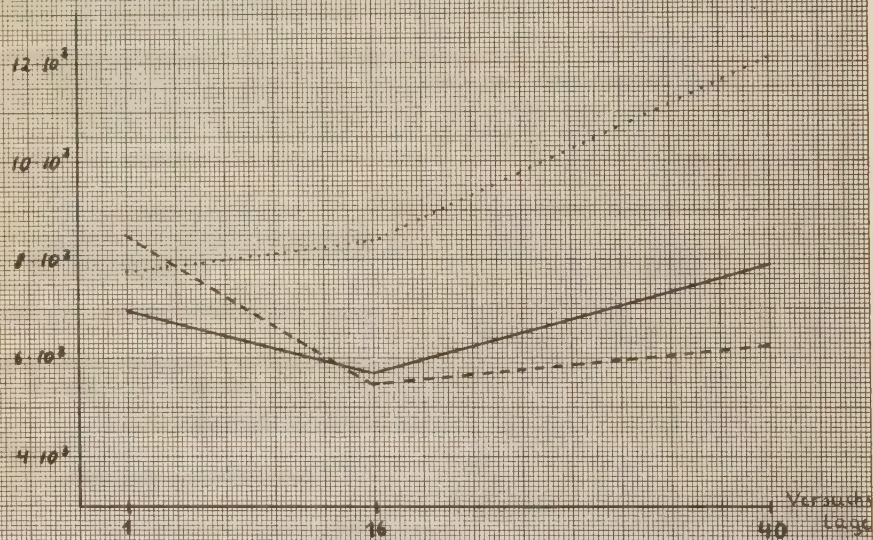
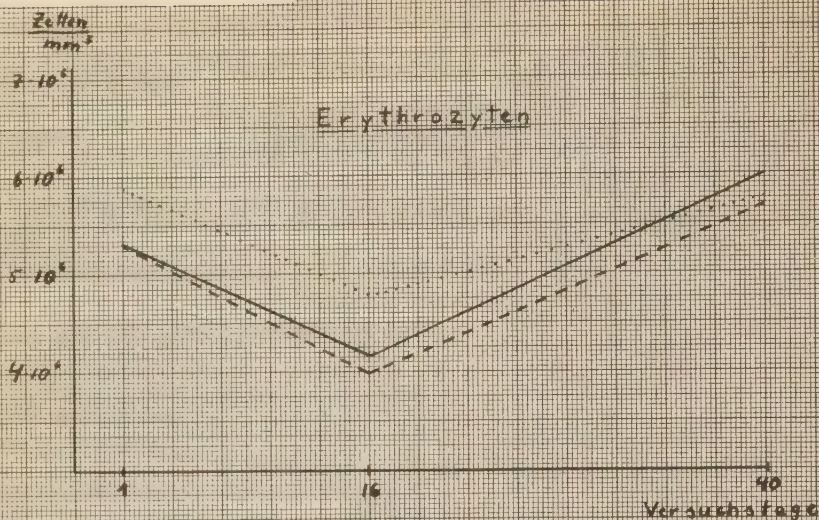
Die Befunde der Ausgangswerte und der Kontrollen sind in den Abbildungen 2 - 7 wiedergegeben.

Ausgangswerte: Die Erythrozyten aller Kaninchen lagen vor Behandlungsbeginn zwischen 4.850.000/ml und 6.470.000/ml, im Mittel bei 5.505.000/ml $\pm$ 475.000 (Abb. 2a).

In Gruppe KL ergab sich bei der ersten Kontrolle eine auffällige Verminderung der Erythrozytenzahl bei sämtlichen Tieren. Die Endkontrollen brachten jedoch eine Normalisierung.

In Gruppe KA kam es bei der ersten Kontrolle zu einer deutlichen Verminderung, die Erythrozytenzahlen glichen sich jedoch gegen Ende der Beobachtungszeit in Richtung der Normalwerte aus.

In Gruppe KAL konnte bei erster Kontrolle ebenfalls eine deutliche Verminderung der Erythrozytenzahlen und bei Bestimmung der Endwerte ein Anstieg zur Norm



..... KL
 ---- KA
 — KAL

Abb. 2 Verhalten der Erythrozyten- und Leukozytenzahlen

beobachtet werden.

Das Verhalten der Leukozyten kann folgendermaßen zusammengefaßt werden:

In Gruppe KL kam es zum Zeitpunkt der Endbestimmung zu Werten zwischen 9.800 und 19.000/ml im Vergleich zu den Ausgangsbefunden und den Ergebnissen der ersten Kontrolle, die sich zwischen 6.300 und 15.200/ml bewegten.

In der Gruppe KA lagen die Ausgangswerte zwischen 5.000 und 11.200/ml. Sie nahmen bis zur ersten Kontrolle deutlich ab und erholten sich auch nicht bei Bestimmung der Endwerte.

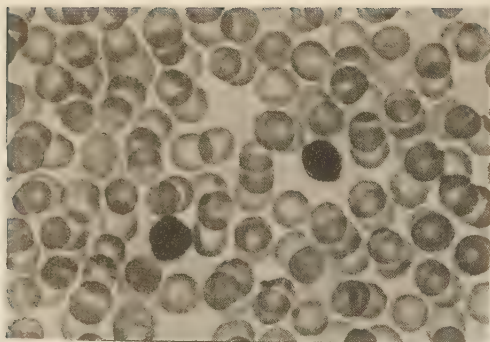
In Gruppe KAL lagen die Ausgangswerte zwischen 5.800 und 7.750/ml. Die erste Kontrolle ergab zumeist deutlich erniedrigte Werte, die Befunde der Endkontrolle erbrachte Werte zwischen 5.300 und 9.750/ml. Sie lagen damit nur geringfügig über den Ausgangswerten (Abb. 2b).

Differentialblutbild

Die unbehandelten Tiere zeigten durchweg ein Vorherrschen lymphozytärer Elemente (ca. 65 %) gegenüber den Granulozyten (ca. 30 %) (Abb. 3a,b). Auffallend war, daß die Granulozyten eine Hypergranulierung mit vorwiegender Eosinophilie zeigten.

Die einzelnen Befunde sind in den nachfolgenden grafischen Darstellungen wiedergegeben (5 - 7). Darüber hinaus fiel auf, daß die im Verlaufe des Versuches in allen Gruppen nachweisbare Anreicherung von Granulozyten durch eine gleichzeitig stärkere Granulierung gekennzeichnet war (wesentlich stärker als bei unbehandelten Tieren) (siehe auch Abb. 4a-c).

a



b

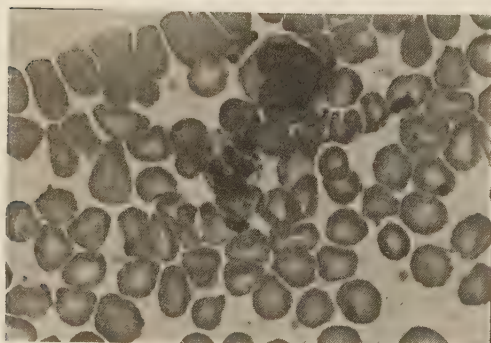
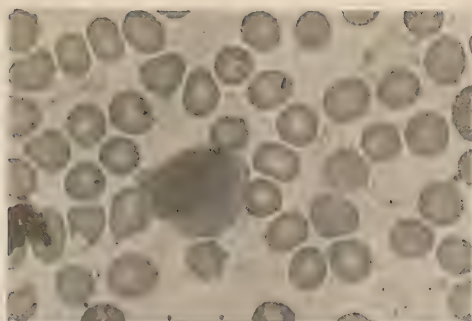


Abb. 3

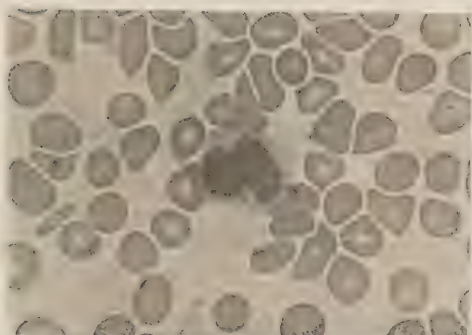
Peripherer Blutausstrich eines unbehandelten Kaninchens

- a) Darstellung kleiner Lymphozyten, die hier dominieren.
- b) Vereinzelt Nachweis von Granulozyten und großen Lymphozyten.

a



b



c

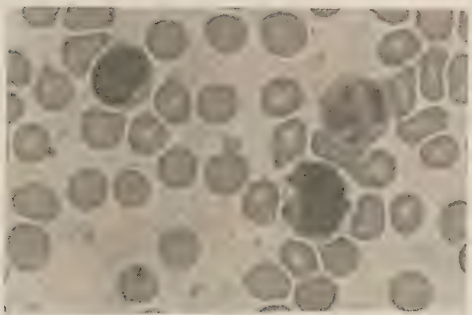


Abb. 4

Peripherer Blutausstrich behandelter Kaninchen

a) Jugendliche Zellen der myeloischen Reihe

b) dito

c) Relativ große Lymphozyten neben einem polymorphkernigen Leukozyten

Die Blutbilder der drei verschiedenen Gruppen zeigten unter der unterschiedlichen Behandlung der Tiere überraschenderweise sehr ähnliche Phänomene.

Zellen $\cdot 1000$
mm³

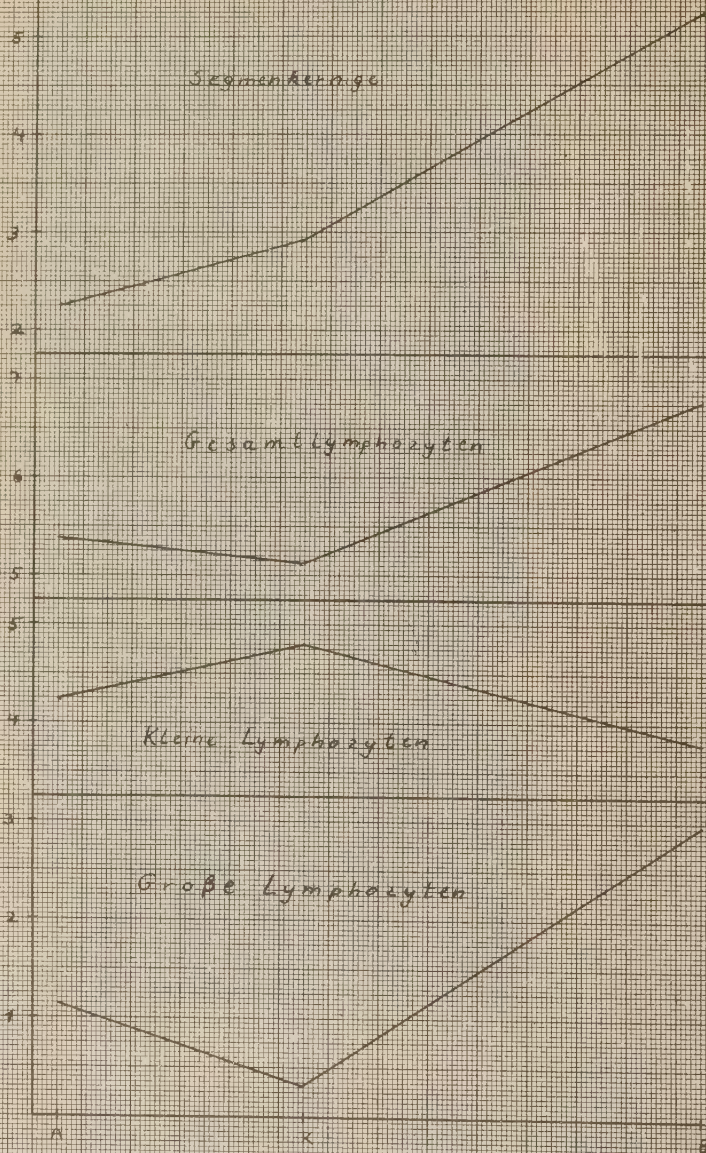


Abb. 5 Verhalten des Differentialblutbildes
Gruppe KL (Absolutwerte)

Zahlen in 1000
mm³

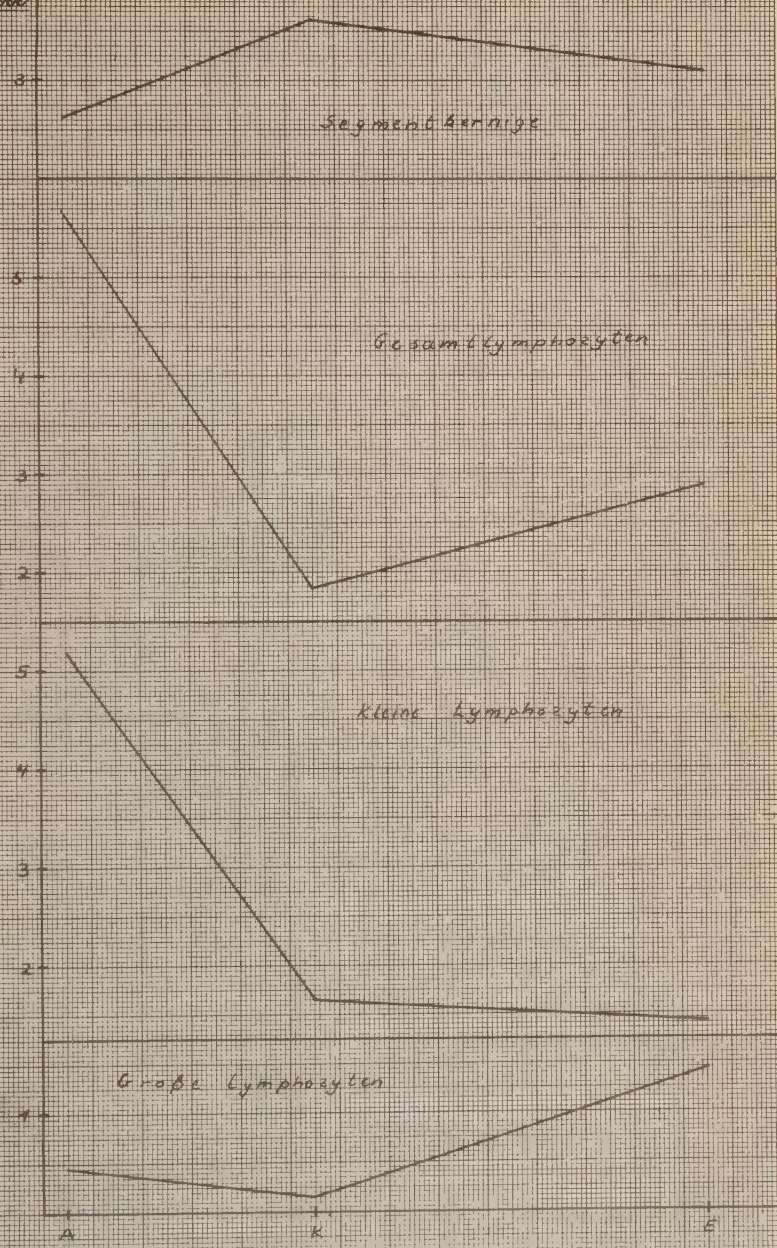


Abb. 6 Verhalten des Blutbildes der Gruppe KA
(Absolutwerte)

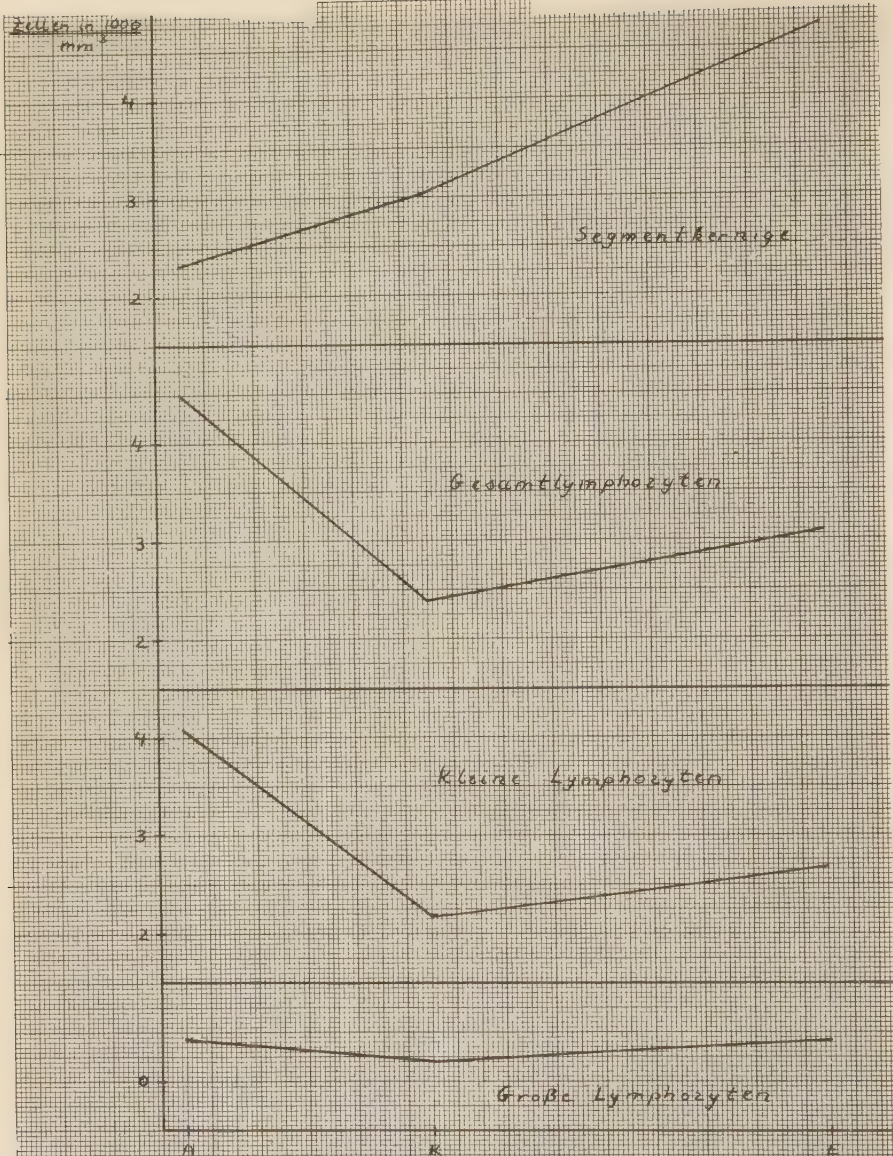


Abb. 7 Verhalten des Blutbildes

Gruppe KAL (Absolutwerte)

3) Knochenmark

Die Knochenmarksausstriche der nicht mit ACTH behandelten, jedoch sensibilisierten Tiere zeigten zu etwa einem Drittel Zellen der lymphatischen Reihe, zu einem weiteren Drittel große, vorwiegend eosinophil hypergranulierte Vorstufen sowie reife Zellen der myeloischen Reihe und zu knapp einem Drittel Elemente der Erythropoese. (Abb. 8a) In der Gruppe der nur mit ACTH sowie in der mit ACTH und Lymphozytenfiltrat behandelten Kaninchen konnten keine nennenswerten Unterschiede in den Knochenmarksbefunden gegenüber den der ACTH-freien, sensibilisierten Tiere nachgewiesen werden. Bei den nur mit ACTH behandelten Kaninchen war jedenfalls auch ein Überwiegen der Elemente der myeloischen Reihe gegenüber der der lymphatischen aufgefallen (Abb. 8b,c).

4) Serumproteine

Blutzucker, Lipide und Cholesterin

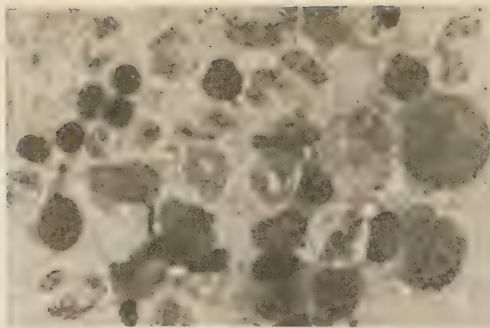
Die Ausgangswerte sämtlicher Kaninchenserum sowie die Befunde der einzelnen Kontrollen sind in der Tabelle 1 und 2 sowie in der Abb. 10a wiedergegeben.

In der Gruppe KL konnte eine relative Hypalbuminämie mit geringfügiger β - und γ - Globulinvermehrung aufgezeigt werden.

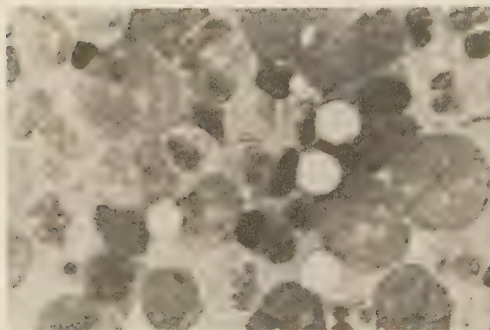
In der Gruppe KA konnte eindeutig eine Verminderung der δ - Globuline und vereinzelt auch der α - Globuline bei relativer Hyperalbuminämie wahrgenommen werden.

In der Gruppe KAL konnte wieder eine Hypalbuminämie festgestellt werden. Die δ - Globuline lagen in Einzelfällen gering über der Norm oder aber unter dieser. Im statisti-

a



b



c

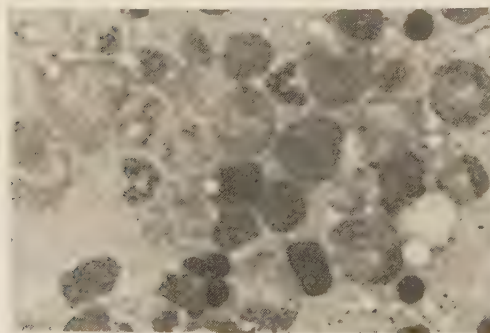


Abb. 8

Knochenmarkbefunde : Je ein Beispiel aus den verschiedenen Versuchsgruppen.

- a) Gruppe KL
- b) Gruppe KA
- c) Gruppe KAL

Vergleiche auch den Text S. 16

Tabelle 1

Verhalten der Serumproteine in relativen Prozentzahlen

GRUPPE	ALBUMIN	α_1 -	α_2 -	β_1 -	β_2 -	γ -
		G L O B U L I N				
KL	57,5	10,8	6,7	6,9	2,7	15,4
	65,5	8,7	7,6	6,2	1,2	10,8
	68,1	7,3	5,3	7,5	2,6	9,2
	71,6	5,9	6,5	5,8	2,6	7,6
	71,5	5,5	5,2	7,1	3,1	7,6
	52,5	7,4	5,6	11,2	4,4	18,9
	59,3	7,1	6,8	12,9	2,5	11,4
	57,0	9,6	4,8	9,9	5,1	13,6
	62,4	5,7	6,6	9,8	3,5	12,0
	59,0	7,3	8,3	8,3	4,3	12,8
KA	71,4	3,1	4,5	5,5	3,3	12,2
	56,1	7,8	6,7	7,6	3,6	18,2
	58,6	7,7	5,7	6,7	3,0	18,3
	71,5	4,2	4,2	8,3	3,2	8,6
	62,6	7,1	6,8	7,1	2,3	14,1
	63,6	7,6	7,2	9,6	4,0	8,0
	69,3	3,4	5,3	8,7	2,9	10,6
	68,8	6,0	5,6	10,3	3,7	5,6
	80,2	2,5	1,5	6,5	4,0	5,3
	65,6	7,2	6,2	10,7	3,5	6,8
KAL	70,9	6,7	4,3	7,3	2,2	8,6
	63,3	6,7	5,1	6,3	1,6	17,0
	59,3	8,9	6,1	9,3	3,0	13,4
	61,7	9,5	4,5	9,3	2,9	12,1
	66,4	5,3	6,1	8,3	3,7	10,2
	58,1	6,7	8,3	12,4	3,6	10,9
	54,9	10,7	11,2	9,2	4,0	10,0
	63,8	7,0	7,4	8,1	4,5	9,2
	68,7	8,2	5,3	6,4	2,9	8,5
	56,3	8,4	7,9	11,6	5,8	10,0

Tabelle 2

Verhalten der Serumproteine in absoluten Prozentzahlen

GRUPPE	ALBUMIN	α_1 -	α_2 -	β_1 -	β_2 -	γ -
		G L O B U L I N				
KL	3,39	0,64	0,40	0,41	0,16	0,91
	3,87	0,51	0,45	0,36	0,07	0,64
	3,40	0,35	0,27	0,38	0,13	0,46
	4,41	0,37	0,41	0,36	0,16	0,48
	4,14	0,37	0,30	0,41	0,18	0,44
	2,84	0,40	0,30	0,61	0,29	1,04
	3,44	0,41	0,39	0,75	0,15	0,66
	3,65	0,61	0,31	0,63	0,33	0,87
	3,56	0,32	0,38	0,56	0,20	0,68
	3,78	0,47	0,53	0,53	0,28	0,82
KA	4,28	0,18	0,27	0,38	0,20	0,73
	3,31	0,46	0,40	0,45	0,21	1,08
	3,58	0,47	0,40	0,41	0,18	1,13
	4,08	0,24	0,24	0,47	0,18	0,49
	3,89	0,44	0,39	0,44	0,14	0,87
	4,01	0,48	0,45	0,61	0,25	0,50
	4,43	0,22	0,34	0,56	0,19	0,68
	3,99	0,35	0,32	0,60	0,22	0,32
	4,90	0,15	0,09	0,40	0,24	0,32
	5,02	0,55	0,47	0,81	0,27	0,52
KAL	4,40	0,42	0,27	0,45	0,14	0,53
	3,81	0,40	0,31	0,38	0,10	1,02
	3,58	0,53	0,37	0,56	0,18	0,80
	3,64	0,56	0,27	0,55	0,17	0,71
	3,91	0,31	0,36	0,49	0,22	0,60
	4,42	0,51	0,63	0,94	0,27	0,83
	3,34	0,65	0,68	0,56	0,24	0,61
	4,08	0,45	0,47	0,52	0,29	0,59
	4,81	0,57	0,37	0,45	0,20	0,60
	3,89	0,58	0,55	0,80	0,40	0,69

schen Mittel ergaben sich praktisch Normalwerte gegenüber den Ausgangsbefunden. Die α -Globuline, insbesondere die α_2 -Fraktion, lagen zum Teil deutlich über der Norm; das gilt auch für einzelne Befunde im β -Bereich.

Immunoelektrophoretisch konnten diese Befunde semiquantitativ bestätigt werden. Die Hypogammaglobulinämie bei den Tieren der Gruppe KA betraf sowohl die IgG-Fraktion als auch eine Komponente, die wahrscheinlich dem IgA entspricht. IgM findet sich formanalytisch weder in den Ausgangswerten noch in den einzelnen Kontrollen der verschiedenen Gruppen (Abb. 9a-b).

Im ganzen gesehen kommt es mit Bezug auf Serumeiweiß, Cholesterin (Abb. 10c) und Lipide (Abb. 10d) unter der Einwirkung von ACTH bis zum Beginn der Sensibilisierung zu einem Abfall der Werte, während der Blutzuckerspiegel (Abb. 10b) ansteigt. Unter der Sensibilisierung jedoch, aber auch bei fortlaufender ACTH-Behandlung ohne Sensibilisierung zeigen sämtliche Befunde eine Tendenz zur Normalisierung. Die mit ACTH behandelte Gruppe zeigt darüber hinaus einen deutlichen Anstieg der Lipide und insbesondere des Cholesterins über die Norm, während die Blutzuckerwerte unter das Ausgangsniveau absinken.

5) Zytotoxizitätstest

Ergebnisse des Zytotoxizitätstest unter Verwendung von Kaninchenserum sowie Humanserum als Komplement

Die Ergebnisse sind im einzelnen in der Tabelle 3 sowie in den Abbildungen 11 - 13 übersichtlich wiedergegeben.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die mit Lymphozyten-

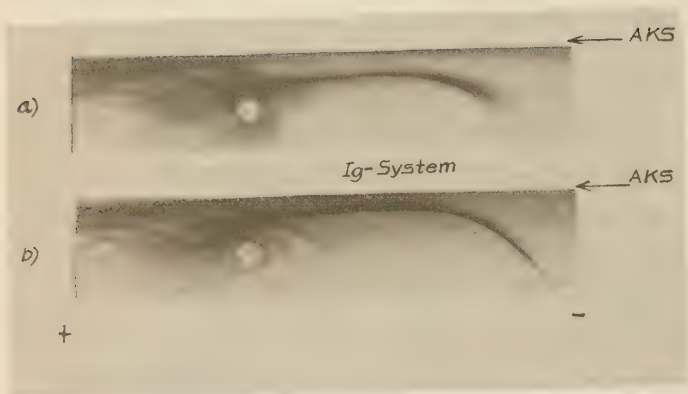


Abb. 9

Immunelektrophoretische Befunde der Kaninchenserum
aus der Versuchsgruppe KAL

a) nach ACTH - Behandlung

b) Nach ACTH - Behandlung und Sensibilisierung

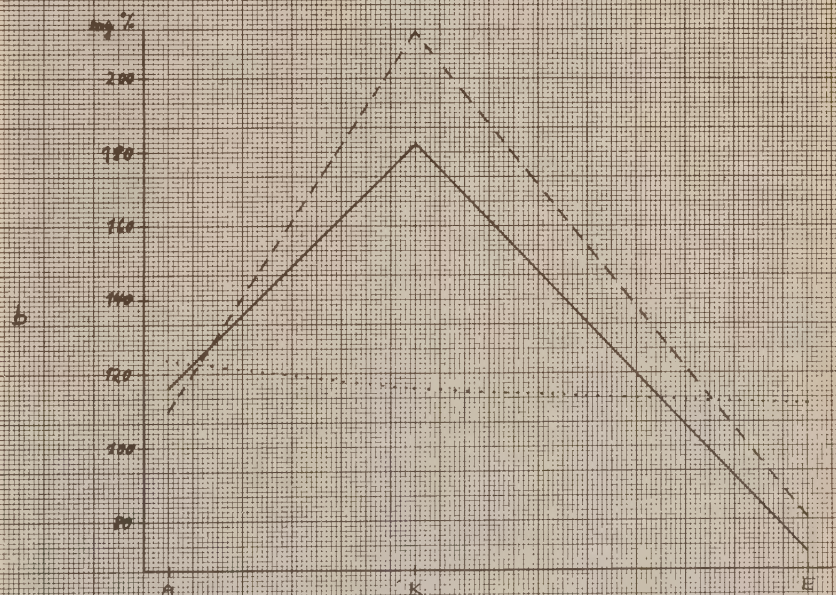
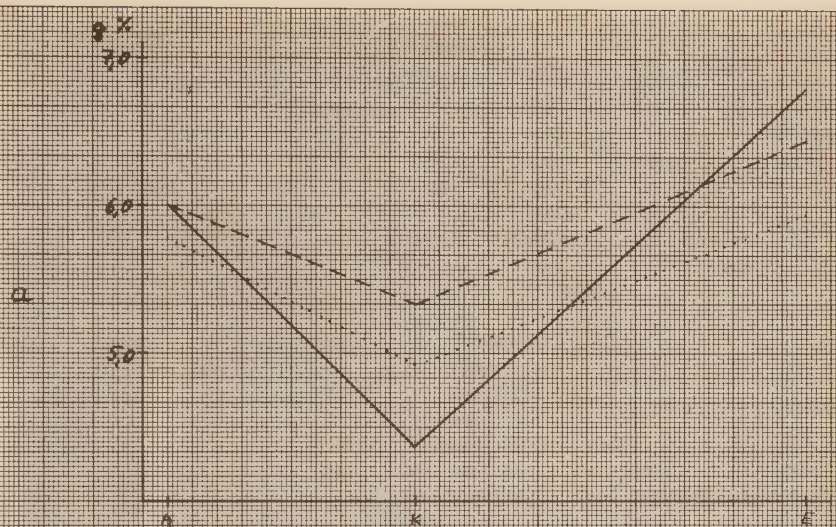


Abb 10 a Verhalten des Gesamtproteins
b Verhalten des Blutzuckers

Gesamtlipide in mg %



Gesamtcholesterin in mg %

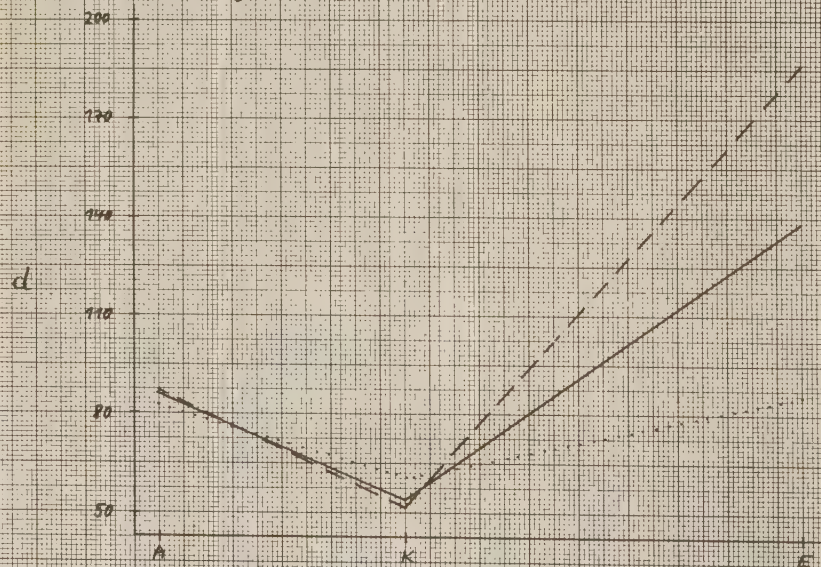


Abb 10 c Verhalten der Gesamtlipide

d Verhalten des Gesamtcholesterin

		A	K	E
1	KA 1	3%	6%	2%
	KA 2	2%	6%	2%
	KA 3	7%	8%	3%
	KA 4	3%	6%	3%
	KA 5	2%	8%	3%
	KL 1	2%	5%	100%
	KL 2	1%	4%	100%
	KL 3	1%	3%	100%
	KL 4	3%	6%	100%
	KL 5	2%	8%	100%
	KAL 1	3%	7%	100%
	KAL 2	4%	6%	100%
	KAL 3	2%	7%	100%
	KAL 4	1%	6%	100%
	KAL 5	2%	5%	70%
2	KA 1	3%	4%	10%
	KA 2	2%	10%	3%
	KA 3	4%	10%	2%
	KA 4	7%	8%	3%
	KA 5	3%	8%	2%
	KL 1	1%	8%	100%
	KL 2	2%	8%	100%
	KL 3	2%	7%	100%
	KL 4	3%	8%	100%
	KL 5	5%	4%	100%
	KAL 1	2%	6%	100%
	KAL 2	1%	6%	100%
	KAL 3	1%	6%	99%
	KAL 4	4%	4%	98%
	KAL 5	3%	4%	100%

Tabelle 3

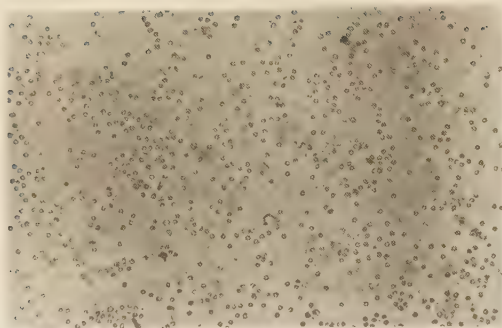
Ergebnisse des Zytotoxizitätstests

1 = unter Verwendung von Humankomplement

2 = unter Verwendung von Kaninchenkomplement

A = Ausgangswert, K = Kontrollwert, E = Endwert

a



b

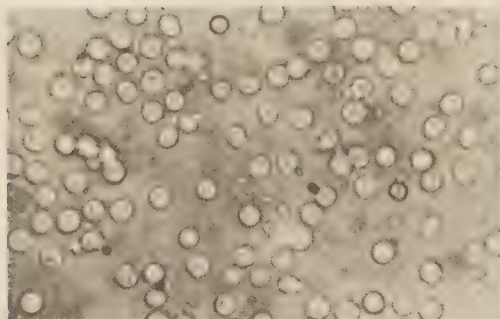


Abb. 11

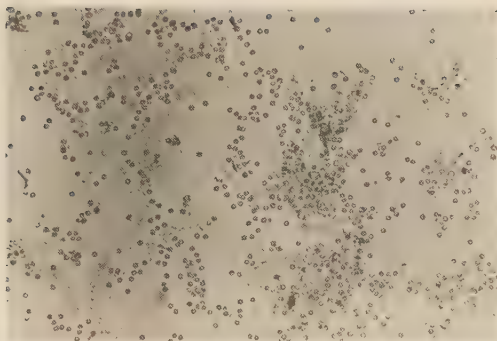
Mikroskopische Befunde des Zytotoxizitätstests unter
Verwendung von antihumanlymphozytenserum vom Kaninchen
und Verwendung von Kaninchenkomplement.

Negativer Befund.

a) Übersicht

b) Ausschnitt

a



b

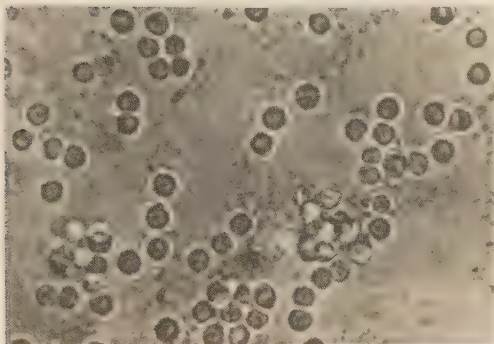


Abb. 12

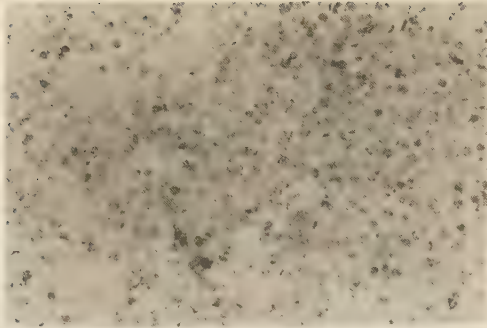
Mikroskopische Befunde des Zytotoxizitätstests unter Verwendung von Antihumanlymphozytenserum vom Kaninchen und Verwendung von Humankomplement.

Man erkennt deutlich die stärkere Konglomeration von Lymphozyten im Vergleich zum Befund in Abb. 11. Die Lymphozyten sind konglomeriert, jedoch nicht toxisch verändert.

a) Übersicht

b) Ausschnitt

a



b

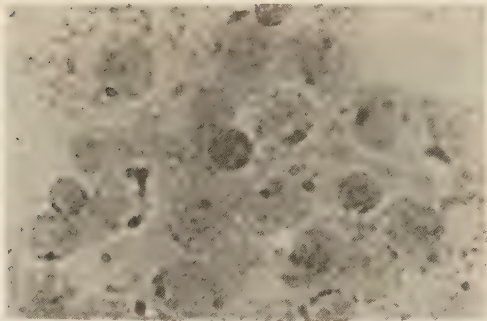


Abb. 13

Mikroskopische Befunde des Zytotoxizitätstests unter Verwendung von antihumanlymphozytenserum vom Kaninchen und Verwendung von Kaninchenkomplement.

Stark positiver Befund (100% Toxizität) beim Titer 1 : 256 aus der Reihe der mit ACTH und Humanlymphozyten behandelten Tiere.

a) Übersicht

b) Ausschnitt

filtrat behandelten Tiere ohne und mit Vorbehandlung mit ACTH im wesentlichen gleichartig reagierten, wogegen die nur mit ACTH aber nicht mit Lymphozytenfiltrat behandelten Kaninchen erwartungsgemäß keine positiven Lymphozytotoxizitätsreaktionen gezeigt haben. Die Zytotoxizitätsreaktion der sensibilisierten Tiere der Gruppen KAL und KL erwiesen sich bei der Endkontrolle als 100 % positiv; die erreichten Endtiter lagen in beiden Reihen zwischen 1 : 256 und 1 : 1024. Insbesondere ergaben sich keine eklatanten Unterschiede zwischen den ACTH-behandelten und den nicht mit ACTH-behandelten Tieren. Die nicht sensibilisierten Tiere der Gruppe KA zeigten dagegen in Einzelbeobachtungen bis zu 2 % Zytotoxizität, was einem negativen Befund entspricht. Die Testlymphozyten erwiesen sich bei positivem Ausfall nicht nur als blau gefärbt, sondern zeigten auch in einem großen Prozentsatz blastomatische Veränderungen (Abb. 13).

6) Kutanreaktionen

Nach Injektion von Lymphozytenfiltrat konnte in insgesamt 4 Fällen der mit Lymphozytenfiltrat vorbehandelten Tiere (Gruppe KL und Gruppe KAL) eine deutliche "Tuberkulin- bzw. delayed-type-Reaktion", charakterisiert durch deutliche intradermale Hämorrhagie und beginnende zentrale Nekrose ca. 26 Stunden post injectionem wahrgenommen werden. Die Gruppe der nicht sensibilisierten Kaninchen (Gruppe KA) zeigte lediglich ein lokales Knötchen ohne periphere Reaktion und von nur flüchtigem Charakter. Die Befunde sind im einzelnen tabellarisch nach Intensität

der Hautreaktion dargelegt (Tab. 4). Außerdem finden sich Dokumentationen in den Abbildungen 14a-c. Histaminpositive Reaktionen fanden sich in Einzelfällen. Auf Injektion von NaCl physiol. wurden nur flüchtige lokale Quaddelbildungen festgestellt.

- 7) Nachweis agglutinierender und toxischer Eigenschaften sensibilisierter Milzzellen gegenüber spezifischen Heterolymphozyten (Mixed Milzzellen-Lymphozyten-Kultur-Test)
- Mit dieser Versuchsanordnung konnte nachgewiesen werden, daß die Milzzellen der mit Humanlymphozyten sensibilisierten Kaninchen der Gruppe KL und KAL eine 100 %ige Agglutinations- sowie Zytotoxizitätsreaktion der Heterolymphozyten bewirkten. Die Reaktion erfolgte bei allen Tieren dieser beiden Gruppen ohne nennenswerte Intensitätsunterschiede. Sie blieb negativ oder zeigte nur vereinzelte Agglutinatbildungen mit Zytotoxizität in den Fällen der nur mit ACTH behandelten aber nicht sensibilisierten Tiere.

8) Fluoreszenzoptische Untersuchungen

Es wurden zwei Versuchsreihen angesetzt; in der ersten wurden Milzzellausstriche mit den für die Sensibilisierung verwendeten Humanlymphozyten inkubiert und anschließend mit fluoresziertem Anti-Kaninchen-Gammaglobulin beschichtet. Die Befunde zeigten, daß die Milzpräparate der sensibilisierten Tiere eine wesentlich geringere Fluoreszenz lymphoidzelliger Elemente aufwiesen als die Präparate der nicht sensibilisierten Gruppe. Ein Unterschied zwischen den mit ACTH vorbehandelten und den nicht vorbehandelten Tieren konnte aufgrund der vorliegenden Beobachtungen nicht wahrgenommen werden.

Bei Behandlung der für die Sensibilisierung verwendeten Humanlymphozyten (mit Methylalkohol in der Kälte fixierter Zellausstrich) mit spezifischem Antilymphozytenserum vom Kaninchen und nachfolgender Inkubation mit fluoreszeiertem Anti-Kaninchen- γ -Globulin konnte in den Präparaten mit den Seren der sensibilisierten Tiere eine eindeutige Zellmembranfluoreszenz beobachtet werden, wohingegen bei Behandlung mit dem Kaninchenserum KA der Befund negativ blieb . Bei Behandlung der Knochenmarksausstriche mit Anti-Lymphozyten-Serum (ALS) und nachfolgender Überschichtung mit fluoreszeierendem Anti-Kaninchen- γ -Globulin konnte bei einer Gruppe von Zellen Membranfluoreszenz, bei einer anderen Gruppe vorwiegend Plasmafluoreszenz nachgewiesen werden (Abb. 15¹⁰).

9) Organbefunde (Pathologie und Histologie)

Die Befunde sind in Tabelle 5 zusammenfassend dargestellt. Im einzelnen sind folgende Auffälligkeiten erwähnenswert:

Gruppe KL

In der Gruppe der mit Humanlymphozyten aber nicht mit ACTH vorbehandelten Tiere waren die Nebennieren (Abb. 17a) und Niere und Leber (Abb. 20a-d) unauffällig. Dagegen fielen an der Milz pathologische Befunde auf. Makroskopisch war die Milz bei allen Tieren deutlich vergrößert und zwar sowohl in der Längs- als auch in der Querachse. Histologisch zeigten sich große Follikel, die relativ dicht gelagert waren und die entweder eine

Reaktion auf intrakutane Injektion von

	NaCl physiol.	Histamin	Lymphozytenfiltrat
KA 1	-	-	(+)
KA 2	-	-	(+)
KA 3	-	-	(+)
KA 4	-	-	(+)
KA 5	-	-	(+)
KL 1	-	-	+
KL 2	-	-	+
KL 3	-	-	+
KL 4	-	-	+++
KL 5	-	-	++
KAL 1	-	-	+
KAL 2	-	-	++
KAL 3	-	-	++
KAL 4	-	(+)	+
KAL 5	-	-	+

Tabelle 4

Ergebnisse des Kutantests

- = keine Hautreaktion

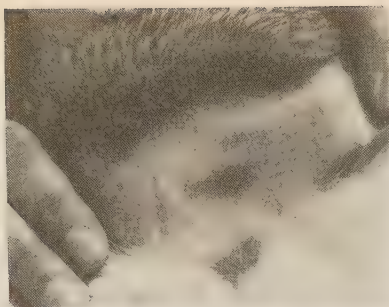
(+) = lokales Knötchen ohne Umgebungsreaktion

+ = deutlich positive Reaktion mit Rötung und Infiltration
der Umgebung

++ = stark positive Reaktion mit intradermaler Hämorrhagie

+++ = Ausbildung einer Nekrose am Injektionsort mit
starker Infiltration der Umgebung

a



b



c

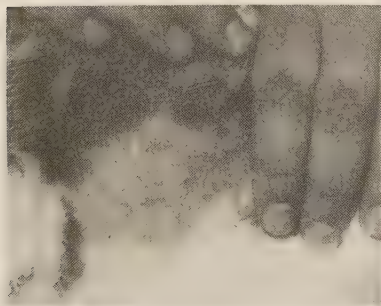


Abb. 14

Kutanreaktionen der Tiere der verschiedenen Gruppen

a) Tier der Reihe KL

b) Tier der Reihe KAL

c) Tier der Reihe KA

Vergleiche auch Text S. 18

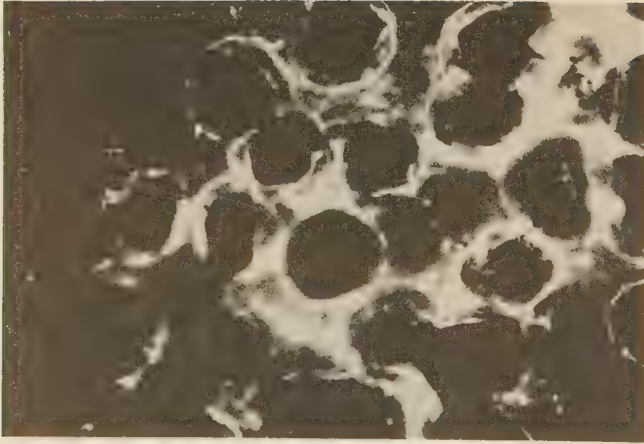


Abb. 15



Abb. 16

Fluoreszenzoptische Untersuchungen

Abb. 15: Darstellung von Membranfluoreszenz

Abb. 16: Darstellung von Plasmafluoreszenz

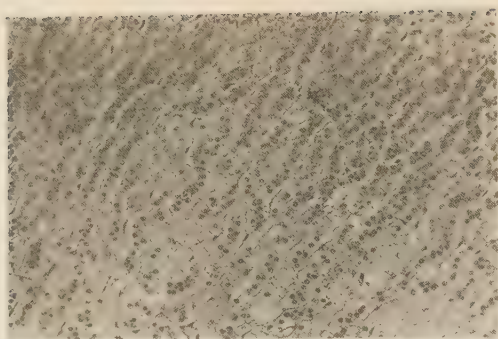
(Vergleiche auch Text S. 19 - 20)

Tier	<u>NEBENNIEREN</u>		<u>MILZ</u>	
	Größe (mm)	Histologischer Befund	Größe (mm)	Histologischer Befund
KL 1	8 x 5	Normale Strukturen	70x10	Stauungshyperämie
KL 2	8 x 6	"	65x10	"
KL 3	9 x 5	"	70x10	unauffällig
KL 4	9 x 5	"	105x11	"
KL 5	8 x 6	"	60x12	Stauung, große Follikel mit Keimzentren
KA 1	11 x 7	Hyperplasie	63x9	Stauungshyperämie, rel. kleine Follikel
KA 2	11 x 6	"	66x6	"
KA 3	13 x 9	"	75x7	Kleine Follikel
KA 4	12 x 7	"	60x10	"
KA 5	11 x 7	"	55x7	Stauung
KAL 1	12 x 8	Hyperplasie	58x9	unauffällig
KAL 2	11 x 8	Entspeicherung	86x10	Stauung, sonst unauffällig
KAL 3	11 x 6	"	80x10	Stauung, verkleinerte Follikel
KAL 4	13 x 7	Hyperplasie	70x7	Stauung, Reduzierung der Follikel
KAL 5	14 x 10	Hyperplasie, beginnende Entspeicherung	67x11	unauffällig

	<u>LEBER</u>		<u>NIERE</u>	
	Makroskopisch	Mikroskopisch	Makroskopisch	Mikroskopisch
KL 1	unauffällig	unauffällig	unauffällig	unauffällig
KL 2	"	unauffällig Cholangitis	"	"
KL 3	"	unauffällig	"	"
KL 4	"	"	"	"
KL 5	"	beginnende Verfettung	"	"
KA 1	unauffällig	starke zentrale Verfettung	unauffällig	unauffällig
KA 2	"	Gallengangskokzidiose	"	ausgedehnte Verkalkungen der Tubuli
KA 3	"	beginnende zentrale Verfettung	"	unauffällig
KA 4	multiple Abszesse	Gallengangskokzidiose, zentrale Verfettung	"	ausgedehnte Verkalkungen der Tubuli
KA 5	unauffällig	Cholangitis, diffuse Verfettung	"	vereinzelte Verkalkungen der Tubuli
KAL 1	unauffällig	beginnende Kokzidiose	unauffällig	vereinzelte Verkalkungen der Tubuli
KAL 2	"	Zellnekrosen	"	"
KAL 3	"	beginnende Kokzidiose	"	ausgedehnte Verkalkungen der Tubuli
KAL 4	"	einzelne Zellnekrosen	"	"
KAL 5	"	Zellnekrosen	"	"

Tabelle 5 Organbefunde

a



b

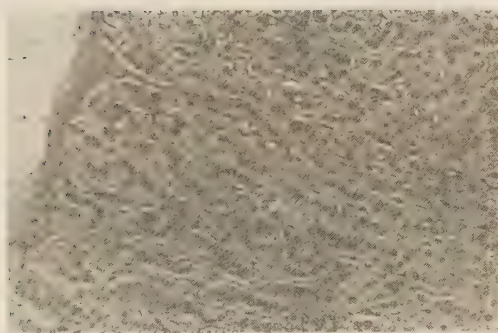
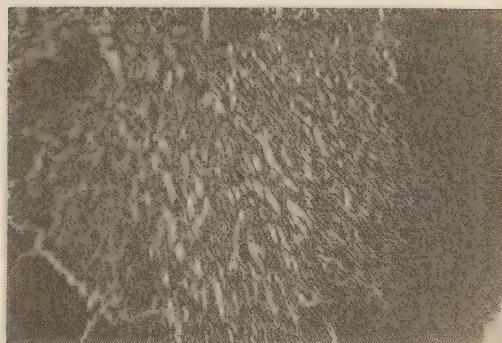


Abb. 17

Histologische Befunde der Nebennieren

- a) Unauffällige Nebenniere aus der Gruppe KL
- b) Nebennierenhyperplasie eines Tieres aus der KA-Gruppe

c



d

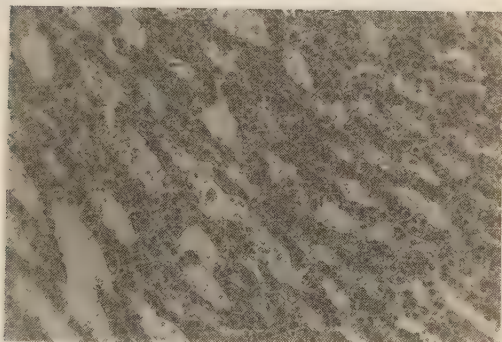


Abb. 17 c - d

Histologische Befunde der Nebennieren

Beispiele für Entspeicherung aus der Gruppe KAL

c) Übersicht

d) Ausschnitt

a



b



c



Abb. 18

Histologische Milzbefunde aus der Gruppe KL

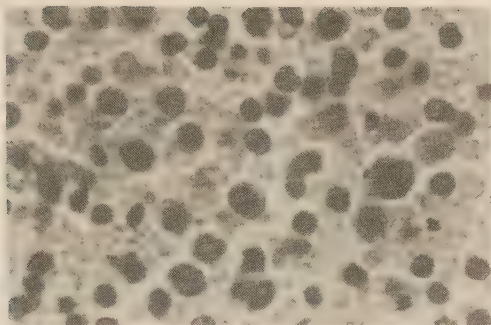
a) Übersicht

b) Einzelne Follikel

c) dito

Vergleiche auch Text S. 20

d



e

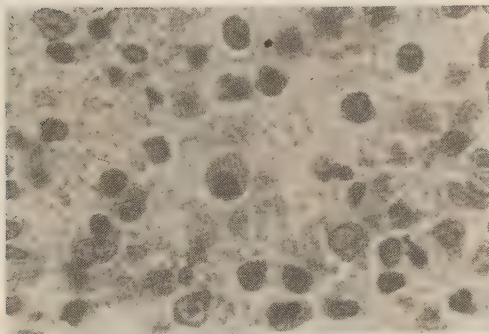
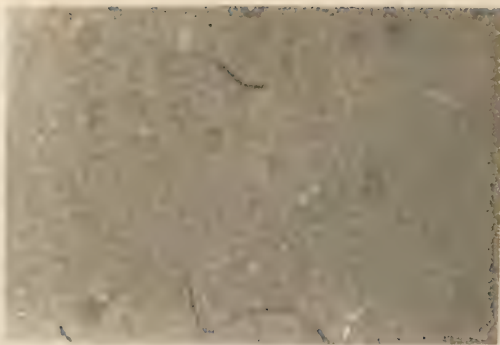


Abb. 18 d - e

Histologische Milzbefunde aus der Gruppe KL

Siehe Text S. 20

a



b



c



Abb. 19

Milzorgane der Gruppen KA und KAL

a) Tier der Gruppe KA

b) Tier der Gruppe KA

c) Tier der Gruppe KAL

Erläuterung siehe Text S. 21 - 22

a



b

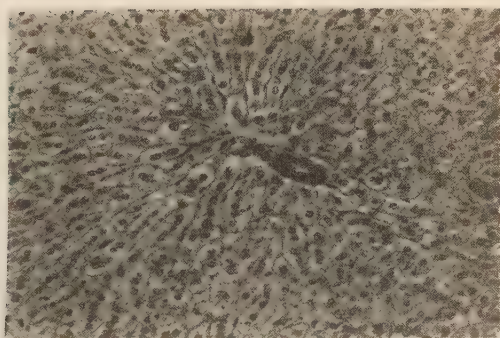


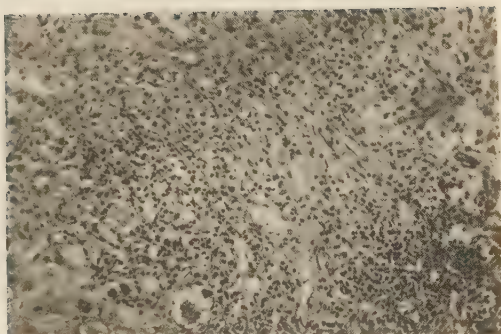
Abb. 20

Histologische Leberbefunde von Tieren aus der Gruppe KL

a) Übersicht einer unauffälligen Leber

b) Ausschnitt aus a

c



d

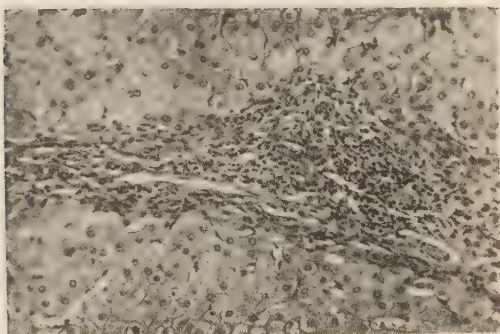


Abb. 20 c - d

Histologische Leberbefunde von Tieren der Gruppe KL

- c) Ausschnitt eines bezirktes mit stärkeren mononukleären, intraparenchymalen Infiltrationen bei einem anderen Tier
- d) Ausschnitt aus dem Befund einer gehäuft auftretenden periportal mononukleären infiltration

Aufhellung der perifollikulären Zone aufwiesen oder deutliche Keimzentren mit dem Nachweis großer, heller Zellkerne, stark gefärbter Nukleolen und teilweise dicht eosinophil granuliertem Zytoplasma (Abb. 18a-e). In allen Milzorganen fanden sich darüber hinaus Zeichen einer Stauungshyperämie.

Gruppe KA

In dieser Gruppe fielen an der Nebenniere sowohl makroskopische als auch histomorphologische Zeichen einer Hyperplasie auf. Der Grad der Hyperplasie war zwar von Tier zu Tier unterschiedlich, jedoch erwiesen sich die entsprechenden Phänomene als unzweifelhaft (Abb. 17b).

Die Milz dieser Tiere war normal groß oder verkleinert. Histologisch konnte neben den Zeichen einer Stauungshyperämie eine deutliche Verminderung und Verkleinerung der Lymphfollikel nachgewiesen werden. Unter den verbliebenen, relativ größeren Milzfollikeln konnten zwar auch solche mit Keimzentren und solche mit Halo beobachtet werden, aber insgesamt imponierte die Reduzierung lymphatischer Elemente (Abb. 19a,b).

Die Leber war makroskopisch wegen ihrer starken Lappung im allgemeinen schwer zu beurteilen. In dieser Gruppe fielen jedoch bei einem Tier (KA 4) multiple, unterschiedlich große Abszesse auf. Histologisch erwiesen sich diese als intensive, lymphoide zellige Wälle mit eindeutigem Nachweis von massen-

haft Kokzidien und Leberzellnekrosen im Zentrum (Abb. 22a-c). Außerdem zeigte sich histologisch an den Organen von drei Tieren eine deutliche bis hochgradige Leberzellverfettung, die entweder vorwiegend zentral (2 Fälle) oder peripher ausgebildet war (Abb. 21a-c).

An den Nieren war histologisch durchweg eine ausgedehnte Verkalkung der Tubuli nachweisbar.

Gruppe KAL

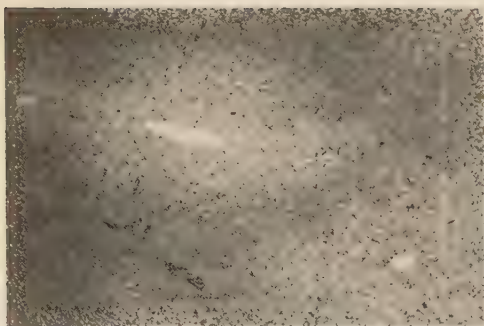
Die Nebennieren der Tiere dieser Gruppe zeigten in 3 Fällen eine deutliche Hyperplasie, in 2 Fällen eine Entspeicherung. Dies wurde makroskopisch und histologisch verifiziert (Abb. 17c,d).

Die Milz erwies sich makroskopisch entweder als normal oder als gering vergrößert (2 Fälle).

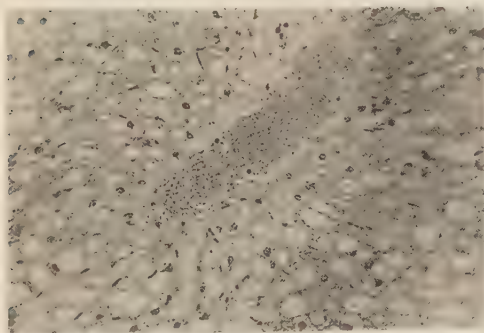
Histologisch war in drei der untersuchten Organe (KAL 1, 2, 5) ein völlig normales Bild, d.h. relativ große und zahlenmäßig ausreichende Follikel nachweisbar. Das Gesamtbild entsprach einem immunologisch aktiven Organ mit dem Nachweis von Keimzentren, stark granulierten Germinoblasten und reifen Plasmazellen (Abb. 19c). Darüber hinaus konnten polymorphkernige Leukozyten bzw. Promyelozyten beobachtet werden. In 2 Fällen waren Bezirke mit relativ verkleinerten und auch verminderten Milzfollikeln nachweisbar.

An der Leber wurde bei den Tieren KAL 1 und KAL 3 histologisch eine beginnende Gallengangskokzidiose

a



b



c

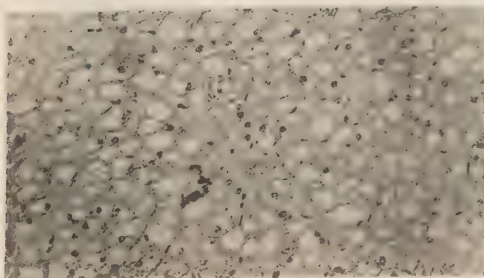


Abb. 21

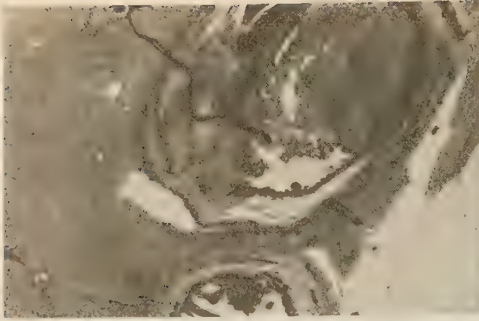
Histologische Leberbefunde aus den Gruppen KA und KAL

Beispiele verschiedener Verfettungsformen (siehe Text S. 21)

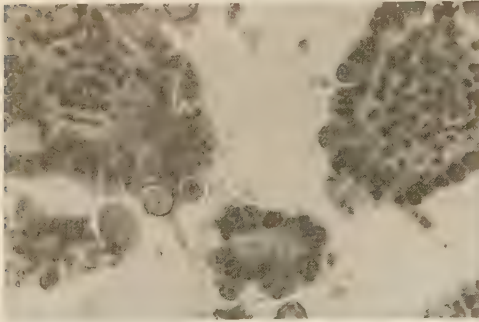
a) Übersicht

b,c) Ausschnitte

a



b



c

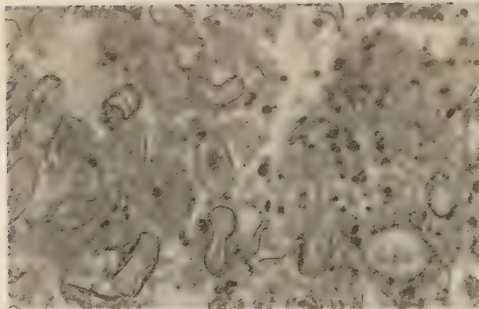


Abb. 22

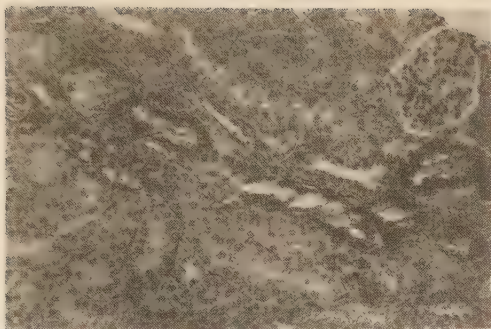
Histologischer Befund einer Leberkokzidiose bei einem Tier aus der Gruppe KA

a) Übersicht

b,c) Ausschnitte

Siehe auch Text S. 22

a



b

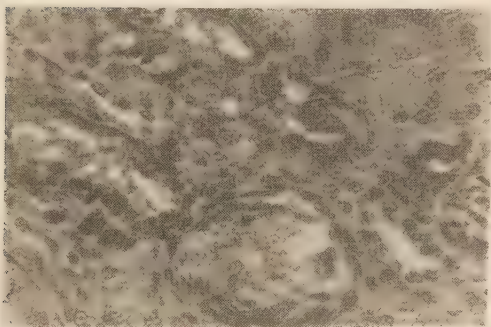


Abb. 23

Histomorphologische Nierenbefunde

Beispiel für die Verkalkung der Tubuli (Gruppe KAL)

a) Übersicht

b) Ausschnitt

Vergleiche auch Text S. 22 - 23

festgestellt. Außerdem ließ sich in 3 Fällen eine mäßige, zentrale Leberzellverfettung mit geringer portaler Rundzellinfiltration nachweisen.

An den Nieren konnte in allen Fällen wiederum eine Verkalkung der Tubuli beobachtet werden (Abb. 23a,b).

III) D i s k u s s i o n

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, daß ACTH, in hohen Dosen verabfolgt, über die Aktivierung von NNR-Hormonen eine Blutzuckererhöhung, Serumlipidanreicherung, eine Entkalkung sowie eine Verminderung peripherer lymphoidzelliger Elemente wie auch molekularer Antikörper bzw. γ -Globuline bewirkt, daß es aber das immunologisch kompetente Zellsystem der Milz und des Knochenmarks sowie Zellen der Myelopoese nur passager bzw. überhaupt nicht beeinflusst. Für alle mit ACTH behandelten Gruppen gilt darüber hinaus, daß sich diese Phänomene gegen Ende der Beobachtungszeit offensichtlich völlig normalisiert haben. Dauerhaft geschädigt blieben jedoch die Leber sowie die Nieren dieser Tiere. An der Leber konnte ziemlich ausnahmslos eine vorwiegende zentrale Leberzellverfettung, an den Nieren eine tubuläre Verkalkung wahrgenommen werden. Dienur mit Lymphozyten behandelten Kaninchen zeigten solche Veränderungen nicht.

Überraschenderweise konnte bei den Tieren der Gruppe KAL eine eindeutig positive Hautreaktion vom Tuberkulintyp ausgelöst werden. Die Intensität der Reaktion war nur geringfügig schwächer als bei den sensibilisierten, nicht mit ACTH behandelten Kaninchen.

Die summarisch wiedergegebenen Beobachtungen werden erhärtet durch die histologisch faßbare Hyperplasie der Nebennieren, insbesondere der Nebennierenrinde, durch die einzelnen Serumbefunde, durch die Ergebnisse

des peripheren Blutbildes sowie durch die morphologisch faßbare Verkalkung der Tubuli von Tieren, die mit ACTH behandelt wurden. Obwohl bei den Tieren der Gruppe KA periphere Lymphozyten und Milzlymphozyten reduziert wurden, konnte durch die Befunde der Gruppe KAL eindeutig widerlegt werden, daß ACTH bzw. Kortikoide die Immunabwehr blockieren. Wie aus den Ergebnissen zu ersehen, konnte in der Gruppe KAL eine aktive Antikörperbildung mit dem Nachweis eines funktionell völlig intakten lymphatischen Apparates und mit dem Nachweis molekularer Antikörper aufgezeigt werden. Dabei liegt die Intensität der Reaktion nur unwesentlich unter der der nicht mit ACTH behandelten Gruppe. Das zeigt sich wiederum in den nahezu gleichartigen Milzbefunden wie auch in der Lymphozytotoxizitätsreaktion bei Vergleich der Gruppen KAL und KL. Gemessen an den Befunden des peripheren Blutbildes und des Knochenmarks entsteht der Eindruck, daß unter ACTH die Granulopoese aktiviert, die peripheren Lymphozyten jedoch, wie bereits dargelegt, reduziert werden. Diese Beobachtung steht in Einklang mit Untersuchungsergebnissen von Levine und Claman (32), die bei Kortison-behandelten Mäusen im Vergleich zu nichtbehandelten ein konträres Verhalten der Knochenmarkszellen und der Milzzellen gegenüber Phythämagglutinin festgestellt haben. Während die Milzzellen der Kortison-behandelten Mäuse durch Phythämagglutinin nur geringgradig stimuliert werden konnten, zeigten Knochenmarkszellen eine gesteigerte Reaktion. Diese unterschiedliche Funktion wird als Beweis dafür erachtet, daß das

lymphatische System von Lymphknoten und Milz dem Thymus unterstellt sei, daß aber die Zellen des Knochenmarkes, einschließlich der dort gebildeten lymphoidzelligen Elemente ein eigenes, vom Thymus unabhängiges System darstelle. Allerdings würden diese Lymphozyten ausschließlich oder zumindest vorwiegend zur Entwicklung zu Plasmazellen und damit zur Bildung molekularer Antikörper prädestiniert sein.

Die eigenen Untersuchungsergebnisse zeigen allerdings auch mit Bezug auf Milzzellen, daß diese, zumindestens unter ACTH, durch aktive Sensibilisierung unvermindert funktions-tüchtig bleiben. Ganz besonders wird die Reaktivierung immunologisch verantwortlicher Zellen damit bewiesen, daß die histologischen Befunde der Milz aus der Gruppe der KAL-Tiere eindeutig eine Keimzentrenbildung mit allen Phänomenen wie sie auch in primär unbehandelten Tieren nachweisbar sind, erkennen ließen. Das wird im übrigen auch in den Einzelfällen bewiesen, in denen die in Versuch genommenen Kaninchen von einer Kokzidiose befallen wurden, wobei sich histologisch eine intensive lymphoidzellige Abwehrreaktion nachweisen ließ. Der Intensitätsgrad molekularer Antikörper (Zytotoxizitätstest) ist nicht ganz so beweisend für die Intaktheit des gesamten Abwehrsystems, da Heterosensibilisierung im allgemeinen eine hohe Antikörperbildungsrate nach sich zieht. Zur Spezifität der Anti-Humanlymphozyten-Seren wurden keine besonderen Untersuchungen angestellt. Damit würde dem ACTH und indirekt den Kortikoiden lediglich eine limitierte periphere lymphosuppressive und nicht schlechthin immunsuppressive Wirkung zu unterstellen sein,

was im übrigen ohne nähere Begründung früher angenommen wurde. Für die Praxis bedeutet das, daß mit der Depression peripherer Lymphozyten sicher auch eine Reihe zellulärer Antikörper, vorwiegend jedoch reifer, ja sogar überalterter Lymphozyten der Gesamtabwehr entzogen werden; damit kommt es zwar in einem gewissen Umfang zu einer Verminderung der für die aktive Abwehr bereitgestellten zellulären Antikörper, der Effekt ist jedoch, wie die vorliegenden Untersuchungen eindeutig gezeigt haben, nur passager, so daß die Behandlung mit ACTH und wohl auch Kortikoiden im wesentlichen zur Verhinderung der Antigenerkennung indiziert ist.

Diese Befunde stehen im Einklang mit älteren eigenen Untersuchungsergebnissen (20, 41a-c), wonach bei Ratten und Kaninchen nach Vorbehandlung mit Kortison und ACTH die Antikörpertiter nach Applikation von Biklar, Pferdeserum, Typhusvakzine und Streptokokkensuspension nur unwesentlich niedriger lagen als bei Tieren ohne Vorbehandlung.

Die vorliegenden Befunde beweisen insgesamt, daß ACTH eine Stimulierung der gesamten Nebennierenrinde mit Bildung von Kortisol, Kortikosteron und Androgenen bewirkt, eine Tatsache, die auf grund biochemischer Untersuchungsergebnisse bereits als gesichert gelten darf (24, 37). ACTH wird auf dem Blutweg und durch Diffusion direkt an die Zelloberflächen der Nebennierenrinde herangeführt und dort absorbiert. Es stimuliert in kürzester Zeit das gesamte Spektrum der Steroidsynthese. Histomorphologisch wird dabei eine Zellproliferation wahrgenommen. Die ACTH-Ausschüttung ist einerseits abhängig vom HNR-Hormonspiegel sowie vom ACTH-Spiegel selbst,

andererseits von vegetativ-nervösen Faktoren, etwa Schlaf, Stress etc. Die Reaktion der Nebennierenrinde auf ACTH ist nicht gleichmäßig; es lassen sich z.B. Tagesrhythmen herausfinden, die ihrerseits durch exogene Faktoren Abweichungen erfahren können. Dennoch muß an einer Beobachtungstatsache festgehalten werden, die im übrigen auch an den eigenen Untersuchungsergebnissen erkannt werden konnte:

Exogen zugeführtes ACTH vermag zwar eine Steigerung z.B. der Kortikoidsynthese um das Drei- bis Fünffache der physiologischen Konzentrationen zu bewirken; desgleichen kommt es unter physiologischem Stress zu maximaler Stimulation der Kortisolsynthese (6), jedoch wird unter kontinuierlicher, exogener ACTH-Applikation, ja sogar unter steigenden ACTH-Dosen, die Ausschüttung von NNR-Hormonen von einem bestimmten Optimum an nicht mehr gesteigert werden. Zieht man nun aus diesen beiden wichtigsten Befunden, nämlich der Stimulierung der gesamten Nebennierenrinde unter ACTH bis zu einem Optimum und der begrenzten Optimalleistung der NNR ohne Einbuße der Funktion, die Schlußfolgerung, so ergibt sich für die Praxis folgendes:

ACTH wirkt -- offenbar über die Kortikoide der NNR -- lymphozytopenisch ohne die Reaktivität lymphatischer Elemente unter Antigenstimulierung zu erschöpfen. Dabei konnte in den eigenen Befunden nicht entschieden werden, ob die Wirkung nur sensibilisierte Lymphozyten oder auch "ruhende" Lymphozyten betrifft. Nach jüngsten Untersuchungsergebnissen von Eurenus und McIntyre (16) wird Kortison nur von sensibilisierten bzw. mit Phythämagglutinin (PHA) stimulierten Lymphozyten absor-

biert und somit wahrscheinlich in seiner Membranstruktur maskiert. Möglicherweise spielen hier die membranstabilisierenden Eigenschaften der Kortikoide (15, 25) eine weitere wichtige Rolle, die die Aktivität Antikörper-spezifischer determinanter Gruppen behindern oder sogar unterbinden. Die erwähnten PHA-abhängigen Kortisonbindungseffekte an Lymphozytenoberflächen können selbstverständlich auch als isolierte PHA-Kortison-Reaktionen aufgefaßt werden, wodurch zwar für den Modellversuch der Autoren der Beweis erbracht worden ist, daß nur sensibilisierte Lymphozyten von Kortison absorbiert werden; es ist hiermit jedoch nicht gesichert, ob ohne PHA-Zusatz Kortikoide nicht auch "ruhende" Lymphozyten umlagern. Die vorliegenden eigenen Befunde sprechen eher dafür, daß Kortikoide wahllos periphere Lymphozyten zu lysieren vermögen, wobei in einem gewissen Grad auch Lymphozyten der Milz mitbetroffen sind. Dagegen kommt es zu einer Aktivierung aller zellulären Elemente des Knochenmarks einschließlich der lymphatischen Reihe. Diese Beobachtung bestätigt die Hypothese, daß die Lymphozyten des peripheren Blutes, der Milz und der Lymphknoten vom Thymus gesteuert werden, die Lymphozyten des Knochenmarks jedoch einem eigenen Reglersystem angehören. Sicher finden sich demzufolge auch im peripheren Blut Lymphozyten aus dem Knochenmark, die unter ACTH und Kortison aktiviert, während die thymusabhängigen Lymphozyten durch diese Hormone offenbar vermindert werden.

Für eine Behandlung im Zusammenhang mit Organtransplantationen würde ACTH initial, d.h. vor Allotransplantationen indiziert sein, um gewissermaßen die Antigenerkennung durch periphere

Lymphozyten zu unterdrücken. Die Langzeitbehandlung könnte unter dem Aspekt der Verhütung banaler Sekundärinfektionen vorgenommen werden, sie würde jedoch nicht im Sinne einer lymphogenen Immunsuppression angezeigt sein. Die Vorteile der ACTH-Anwendung liegen auf der Hand:

Erstens Die NNR-Insuffizienz kann verhindert werden,
zweitens durch die gleichzeitige Aktivierung von Mineralokortikoiden wird eine Entgleisung des Elektrolytstoffwechsels vermieden,
drittens bleibende Kohlehydrat- oder Fettstoffwechselstörungen sind nicht zu erwarten, was im übrigen auch in den eigenen Untersuchungen eindeutig gezeigt werden konnte und
viertens wie bereits erwähnt wird die immunologische Gesamtsituation nicht gefährdet, das gilt für die Entwicklung von zellulären und molekularen Antikörpern. Für ACTH-Präparate, die synthetisch hergestellt wurden, wie auch im hier vorgenommenen Versuch, gilt schließlich, daß der Prozentsatz der zu erwartenden allergischen Reaktionen außerordentlich gering ist, so daß diese Gefahr praktisch ausgeschlossen werden kann (40).

Z u s a m m e n f a s s u n g

Zur Prüfung der immunsuppressiven Wirkung eines synthetischen ACTH-Präparates unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Nebenwirkungen wurden 15 Kaninchen in 3 Gruppen in Versuch genommen. 5 Tiere erhielten ohne Vorbehandlung menschliche Lymphozyten appliziert, welche eine allergische Reaktion vom delayed-type mit Bildung zellulärer Antikörper bewirken sollte (KL 1-5). In einer zweiten Gruppe wurden 5 Tiere ausschließlich mit einem synthetischen ACTH-Präparat behandelt (KA 1-5). Die Behandlung erfolgte, ebenso wie in der folgenden Gruppe, als Dauerbehandlung mit maximalen ACTH-Dosen: 6 Wochen lang zweimal wöchentlich 1 mg ACTH i.m. Die 5 Kaninchen der dritten Gruppe erhielten sowohl ACTH als auch Lymphozyten appliziert. Untersucht wurden das periphere Blutbild, die Serumproteine, die Serumfette, der Blutzucker sowie Serum und Zellen auf Antikörpereigenschaften. Außerdem wurden zu Ende des Versuches Nebennieren, Milz, Leber, Nieren, Knochenmark und in Einzelfällen Herzmuskulatur histologisch untersucht. Als Ergebnis konnte festgestellt werden, daß ACTH eine initiale, jedoch passagere Reduzierung peripherer Lymphozyten und bis zu einem gewissen Grad auch der Milz-Lymphozyten sowie ebenfalls passagere Veränderungen der Blutfette und des Blutzuckerspiegels bewirkt, daß aber unter der kontinuierlichen Weiterbehandlung mit ACTH eine völlige oder doch weitreichende Normalisierung der Blutbefunde resultierte. Außerdem konnte unter ACTH eine Aktivierung der knochenmarkabhängigen Elemente nachgewiesen werden.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) Anderson, E.
Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and Cortisone:
Their affect on intra dermal reactions.
Acta allergol. 5, 58 (1952)
- 2) Arbesman, C.E., E. Neter und L.F. Bertram
The effect of ACTH and cortisone on certain immuno-
logic mechanisms including reversed anaphylaxis.
J. Allergy 22, 340-9 (1951)
- 3) Arbesman, C.E., Kl. Terplan, E. Neter, c.s.
The effect of ACTH and cortisone on the pathology
of reversed anaphylaxis in the guinea pig.
J. Allergy 26, 123-132 (1955)
- 4) Bakouche, P.
Immunologische Aspekte der Multiplen Sklerose.
Münch. Med. Wschr. 111, 1965-87 (1969)
- 5) Baltch, A.L., Lerner, H.H. und Lolans, V.T.
Influence of corticosteroid therapy on serum comple-
ment agglutinins, free-boundary electrophoresis,
total protein and blood counts in dogs with staphy-
lococcal bacteremia.
J. Immun. 96, 149 (1966)
- 6) Eierich, J.R., D. Schönberg und E. Eckler
Studies on the dynamics of the hypophysis-adrenal-
cortex system.
Untersuchungen zur Dynamik des Hypophysen-Neben-
nierenrindensystems.
Dtsch. Med. Wschr. 87, 84-90 (1962)
- 7) Björneboe, M., E.E. Fischel und H.C. Stoerk
The effect of cortisone and adrenocorticotrophic
hormone on the concentration of circulating anti-
body.
J. Exper. Med. 93, 37-48 (1951)
- 8) Boström, H., K. Berntsen und M.W. Whitehouse
Biochemical properties of anti-inflammatory drugs.
II. Some effects on sulfate S 35 metabolism in vivo.
Biochem. Pharmacol. 13, 413 (1964)
- 9) Brandon, M.L.
Immunization of multiple sclerosis patient receiving
corticotrophin.
J. Amer. med. Ass. 207, 1724 (1959)
- 10) Christensen, I.
The influence of corticotrophin and cortisone on
the arthus-phenomenon in intact and hypophysectomized
rabbits.
Acta Endocr. 31, 291-298 (1959)

- 11) Coons, A.H. und M.H. Kaplan
Localisation of antigen in tissue cells.
II. Improvements in a method for the detection of
antigen by means of fluorescent antibody.
J. Exper. Med. 91, 1 (1950)
- 12) Crieep, L.H., L.D. Mayer und O.E. Lozano Menchaca
The effect of adrenalectomy on experimental hyper-
sensitivity.
J. Allergy 22, 314-29 (1951)
- 13) De Vries, I.A.
The effect of adrenocorticotrophic hormone on
circulating antibody levels.
J. Immunol. 65, 1 (1950)
- 14) Diekhoff, J.B. und L. Schneeweiss
Der Einfluß von anabolen und katabolen Steroiden
auf die Antikörper-Bildung.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 20, 189 (1965)
- 15) Ebert, R.H., W.R. Barclay
Changes in connective tissue reaction induced by
cortisone.
Ann. Intern. Med. 37, 506 (1952)
- 16) Eurenius, K. und O.R. McIntyre
The mechanism of glucocorticoid action on the
phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte.
3. Steroid binding to transforming lymphocytes.
Int. Arch. Allerg. 38, 158-67 (1970)
- 17) Fischel, E.E., H.C. Stoerk und Bjørneboe, M.
Failure of cortisone to affect rate of disappearance
of antibody protein.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, 111 (1951)
- 18) Forsham, P.H., G.W. Thorn, F.T.G. Prunty und A.G. Hills
Test for adrenal cortical insufficiency; response
to pituitary adreno-corticotrophic hormone.
J. Amer. Med. Assoc. 137, 1005-1009 (1948)
- 19) Germuth, F.G.Jr., J. Oyama und B. Ottinger
The mechanism of action of 17-hydroxy-11-dehydro-
corticosterone (Compound E) and of the adreno-
corticotrophic hormone in experimental hypersensi-
tivity in rabbits.
J. Exper. Med. 94, 139 (1951)
- 20) Götz, H.
Das Verhalten der Serumweißkörper unter Sensibi-
lisierung sowie in Abhängigkeit vom Nebennieren-
rinden-System.
Inaug. Diss. Erlangen, 1955

- 21) Havens, W.P. und J.M. Shaffer
Effect of ACTH and cortison on antibody.
Federat. Proc. 10, 410 (1951)
- 22) Herbert, P.H. und I.A. de Vries
Administration of adrenocorticotrophic hormone to normal human subjects; effect of leucocytes in blood and on circulating antibody levels.
Endocrinology 44, 259-273 (1949)
- 23) Hugues, I., I. Leconte und H. v. Cauwenberge
Inhibition des réactions anaphylactiques du lapin par les hormones corticosurrénaliennes le salicylate de soude et le gluconate calcique.
Arch. internat. Pharmacodynam. 100, 105-112 (1954)
- 24) Hughes, E.R., I.R. Seely, V.C. Kelley und R.S. Ely
Corticosteroid levels before and after corticotropin.
Amer. J. Dis. Child. 104, 605-609 (1962)
- 25) Kantor, Th.G.
Anti-Inflammatory Drugs.
In: Textbook of Immunology
Miescher, P.A. and H.J. Müller-Eberhard
Grune & Stratton, New York and London
Bd. I S. 219 (1968)
- 26) Keeney, E.L., H.A. Weiss und E. Mears
Use of cortisone or ACTH during rapid desensitization of allergic patients.
Amer. J. Med. 15, 416 (1953)
- 27) Keller, H.V. und E. Sorkin
The effect of antinflamatory drugs on chemotaxis of granulocytes.
In: International Symposium on Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs.
International Congress Series. New York,
Excerpta Medica Foundation, 1965, S. 134
- 28) Kissmeyer-Nielsen, F. und K.E. Kjerbye
Lymphocytotoxic microtechnique. Purification of lymphocytes by fluotation.
In: Histocompatibility testing 1967 S. 381-383
Munksgaard, Copenhagen 1967
- 29) Klein, G. und S. Moestl
Ergebnisse der immunsuppressiven Langzeitbehandlung der progressiv chronischen Polyarthrititis und des Lupus erythematoses.
Z. Rheumaforsch. 29, 67-74 (1970)
- 30) Kohn, J.
a) New supporting medium (or zone electrophoresis)
Biochem. J. 65, 9 (1957)

- b) A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis.
Clin. Chim. Acta 2, 297 (1957)
- c) Zur Technik der GAF-Elektrophorese.
Ärztl. Laborat. 10, 233 (1964)
- 31) Lecomte, I. und M.L. Beaumariage
hormones corticosurrénales et résistance du lapin au choc anaphylactique.
C. R. Soc. Biol. 151, 2234-36 (1957)
- 32) Levine, M.A. und H.W. Claman
Bone marrow and spleen: discussion of immunologic properties by cortisone.
Science 167, 1515-1517 (1970)
- 33) Makinodan, T.
Changes in immunological progress caused by radiation.
In: Handbuch der Medizinischen Radiologie
Vol. II Part 2 (1966)
- 34) Meschlin, S., R. Bâguena und I. Bâguena
Influence of ACTH and cortisone on the antibody production and the plasma cell reaction.
Bull. Acad. Suisse Sciences Med. 3, 153 (1952)
- 35) Morio, P., Olivero, S., E. Vezzosi, P. Bezzi, P. Ibba, R. Gallinani und G. Sanfelici
Trapianto polmonare sperimentale. Terapia immunosoppressiva.
Minerva Med. 60, 903-17 (1969)
- 36) Roddie, I.C.
Modern Views on physiology XIV-The Immune Response.
Practitioner 204, 327-34 (1970)
- 37) Rohner, R. et al.
The effect of depot ACTH on the adrenal cortex in high and low spontaneous activity.
Schweiz. Med. Wschr. 95, 1581-4 (1969)
- 38) Scheidegger, J.J.
Une micro-méthode de l'immunoelectrophorèse.
Int. Arch. Allergy 2, 103 (1954)
- 39) Scheiffarth, P. und H. Wernatz
Langzeitbehandlung von Immunopathien unter besonderer Berücksichtigung immunosuppressiver Medikamente.
Dtsch. Med. Wschr. 94, 2444-2449 (1969)
- 40) Scheiffarth, P. und H. Götz
Experimentelle Untersuchungen zur Frage sensibilisierender Nebenwirkungen von Tetracosactid.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 20, 381-384 (1970)

- 41) a) Scheiffarth, F., F. Legler und G. Berg
Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussbarkeit der humoral faßbaren Antikörperproduktion durch die Hormone des Hypophysen-Nebennieren-Systems.
I. Mitteilung: Das Verhalten der Antistreptolysinreaktion und der Serumeiweißkörper unter ACTH.
Zsch. Ges. Exp. Med. 120, 558-567 (1953)
- 41) b) Scheiffarth, F., F. Legler und G. Berg
Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussbarkeit der humoral faßbaren Antikörperproduktion durch die Hormone des Hypophysen-Nebennieren-Systems.
II. Mitteilung: Das Verhalten der Antistreptolysinreaktion und der Serumeiweißkörper unter Cortison.
Zsch. Ges. Exp. Med. 120, 568-577 (1953)
- 41) c) Scheiffarth, F., F. Legler und G. Berg
Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussbarkeit der humoral faßbaren Antikörperproduktion durch die Hormone des Hypophysen-Nebennieren-Systems.
III. Mitteilung: Das Verhalten der Widal-Reaktion und der Serum-Eiweißkörper unter ACTH und Cortison.
Zsch. Ges. Exp. Med. 122, 578-594 (1954)
- 42) Schwartz, R.S.
Immunsuppressive drugs.
In: Progress in Allergy Basle 1965
- 43) Thorn, G.W., P.H. Forsham, Th.F. Frawley, S.R. Hill, M. Roche, D. Staehelin und D.L. Wilson
The clinical usefulness of ACTH and cortisone.
New England J. Med. 242, 783-93 (1950)
- 44) Weissman, G. und L. Thomas
The effect of corticosteroids upon connective tissue and lysosomes.
Recent Progr. Hormone Res. 20, 215 (1964)
- 45) Witte, S. und K.Th. Schrickler
Morphologie des Blutes.
In: Henning, N.: Klin. Laboratoriumsdiagnostik.
S. 177 (1966)
3. Auflage Urban + Schwarzenberg
München-Berlin-Wien

Für die Überlassung des Themas, die Einweisung in die Problematik der Arbeit und in die methodischen Grundlagen sowie für die Übernahme des Referats danke ich Frau Priv.-Doz. Dr. med. H. Götz vielmals.

Mein Dank gilt aber auch Frau M. Lebeck sowie Fräulein I. Anders für die lebenswürdige Unterstützung bei der Anfertigung der Blutbilder, der Gewebeschnitte und der immunologischen Untersuchungen.

L e b e n s l a u f

Geboren wurde ich am 3. April 1947 in Berlin als Tochter der Verwaltungsangestellten Irma Nützmann und des Fachschullehrers Karl Nützmann.

Von 1953 bis 1959 besuchte ich die Grundschule, anschließend den neusprachlichen Zweig des Rückert-Gymnasiums in Berlin, wo ich 1966 das Abitur ablegte.

Im Sommersemester 1966 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin und bestand hier im Sommersemester 1968 das Physikum.

Jetzt studiere ich im zehnten Semester Medizin und werde im Wintersemester 1971/72 mein Studium mit dem Staatsexamen abschließen.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin

- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31

